

Histamin och histaminreceptor H4 vid inflammatoriska tillstånd

Henrik Husu LK

Institutionen för klinisk medicin, avdelningen för invärtes medicin

Helsingfors 12.2.2013

Avhandling

henrik.husu@helsinki.fi

Handledare: Yrjö T. Konttinen, professor i invärtes medicin

HELSINGFORS UNIVERSITET

Medicinska fakulteten

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty Medicinska fakulteten		Laitos – Institution – Department Institutionen för klinisk medicin	
Tekijä – Författare – Author Henrik Husu			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Histamin och histaminreceptor H4 vid inflammatoriska tillstånd			
Oppiaine – Läroämne – Subject			
Työn laji – Arbetets art – Level Avhandling	Aika – Datum – Month and year 12.2.2013	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 61	
Tiivistelmä – Referat – Abstract <p>Histamin är en biologiskt amin, som förekommer rikligt i människans vävnader. Histaminet syntetiseras i professionella- och icke-professionella histaminproducerade celler, varav de förstnämnda lagrar histamin i sekretkorn för att utsöndras vid behov i höga koncentrationer, och de sistnämnda utsöndrar kontinuerligt låga histaminkoncentrationer. Effekterna av histamin förmedlas via fyra G-proteinkopplade receptorer på cellmembranen, H₁R - H₄R, av vilka H₄R lokaliseras främst på celler med hematopoietiskt ursprung.</p> <p>Vid en del inflammatoriska och allergiska sjukdomar, såsom vid astma, har lokalt förhöjda histaminkoncentrationer i vävnad kunnat påvisas, men trots det har behandling med traditionella antihistaminer (H₁R -antagonister) haft en begränsad effekt. Efter identifieringen av H₄R med hög histaminaffinitet finns det förväntningar att läkemedel som påverkar H₄R kunde vara effektiva vid behandling av autoimmuna och inflammatoriska sjukdomar.</p> <p>Syftet med den nuvarande studien är att utreda vad man vet om H₄R, och analysera relevant litteratur angående H₄R:s verkan vid olika inflammatoriska sjukdomstillstånd.</p> <p>(145 ord)</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Histamine; Histamine receptors; Histamine H4 receptor, human; Atopic hypersensitivity; Pruritus; Autoimmune disease;			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

1. Inledning.....	1
2. Material.....	2
3. Metoder.....	2
4. Resultat och diskussion	3
4.1. Allmänt.....	3
4.2. Histaminomsättningen i cellerna	6
4.3. Histaminreceptorerna H ₁ R, H ₂ R och H ₃ R.....	11
4.4. H ₄ R	15
4.5 Immunförsvarets celler och autoimmuna sjukdomar	18
4.6 Histamin, H ₄ R och allergiska och autoimmuna sjukdomar	27
5. Framtidsvisioner	47
Referenser	50

1. Inledning

Histamin är en biologisk amin som har känts till i över hundra år. Molekylen förekommer i de flesta vävnader och organ i kroppen, och histamin deltar i regleringen av flera fysiologiska uppgifter, t.ex. immunförsvarets reaktioner. Ett flertal celler har påvisats kunna producera histamin, och en del av dem producerar histamin för att lagras i sekretkorn och utsöndras i höga lokala koncentrationer vid behov, medan andra utsöndrar histamin mera eller mindre i takt med produktionen. I celler fungerar ett effektivt och ändamålsenligt histaminomsättningssystem, som sannolikt även möjliggör upptag av dietärt och mikrobiellt producerat histamin.

Histamin förmedlar sina cellfysiologiska verkningar via fyra G-proteinkopplade receptorer på cellmembranen, varav den senast identifierade histaminreceptor H₄R (H₄R) uttrycks främst på celler med hematopoietiskt ursprung. Då histamin har förknippats med patogenesen av en del allergiska och autoimmuna sjukdomar, var det en naturlig följd, att karakteriseringen av H₄R i början av det nya milleniet ledde till ett intresse att utreda huruvida signalering via denna receptor kunde påverka sjukdomsförloppet i inflammatoriska sjukdomar. Inga läkemedel som enbart påverkar H₄R finns för tillfället på marknaden, men första kliniska fas I-II studier med H₄R-modulatorer har påbörjats (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01260753?term=UR-63325&rank=1>). På basen av provdjursstudier förväntas effekt fås vid behandling av allergiska sjukdomar, såsom allergisk rinit. Förhoppningar om att H₄R-modulatorer skulle vara nyttiga vid behandlingen av autoimmuna sjukdomar finns också.

Forskningsmaterialet och -metoderna för denna avhandling beskrivs i kapitel två och tre. Kapitel fyra består dels av refererade relevanta forskningsresultat angående ämnet, men också egna slutledningar och kommentarer angående resultaten. Detta framställningssätt valdes avsiktligt för att ge bästa möjliga struktur för texten och för att förbättra textens följsamhet. I sista kapitlet av avhandlingen sammanfattas det viktigaste inom ämnet och framtidsvisioner diskuteras.

2. Material

Denna forskning är en litterär referering och analys av relevant tillgänglig forskningsdata angående histamin, histaminreceptorer, och speciellt icke-professionella histaminproducerande celler och histaminreceptorn H₄R med hög histaminaffinitet, samt omnämnda faktors inverkan på inflammatoriska sjukdomar och sjukdomstillstånd. Materialet till studien samlades från medicinska databaserna Pubmed, Webofknowledge och OvidMedline.

Som sökord användes bl.a. "H₄R", "histamine H₄", "HRH₄" och sammanlagt 159 relevanta artiklar valdes för forskningen. Flertalet relevanta översiktsartiklar studerades, och källor, som inte hittades vid sökning av medicinska databaser plockades manuellt ur artiklarna för att ingå i studien. Projektet har understötts av ett EU-finansierat H₄R projekt och ett europeiskt expertnätverk (COST Action BM0806: http://w3.cost.esf.org/index.php?id=213&action_number=BM0806) samt två doktorander i värdsgruppen där avhandlingen har utförts. Studien gjordes under professor Yrjö T. Konttinen's handledning.

3. Metoder

Forskningen är en litteraturanalys. Artiklarna som valdes för studien representerar relevant publicerad forskningsdata angående histamin, histaminmetabolism och histaminreceptorer, och deras anknytning till immunologiska och inflammatoriska sjukdomar. Studiens tyngdpunkt är på att sammanfatta och analysera de allra senaste forskningsresultaten angående ämnet dels ur synvinkeln av akademiskt patofysiologiskt intresse, och dels med tanke på nya behandlingsmöjligheter för sjukdomar med

immunologisk bakgrund. I och med att praktisk forskning inte ingår i studien, har meningen i stället varit att skriva en mer djupgående analys av aktuell litteratur. Följaktligen är mängden referenser också betydligt större jämfört med en konventionell publikation på praktiska forskningsresultat.

4. Resultat och diskussion

4.1. Allmänt

Histamin är en biogen monovalent katjonisk amin som karakteriserades för över hundra år sedan av Sir Henry Dale och kolleger (1). Sedan dess har histamin varit en intensivt studerad biologisk molekyl. I cellen syntetiseras histamin ur den essentiella aminosyran (aa) L-histidin, och syntesen är beroende av enzymet L-histidin dekarboxylas (HDC). Histamin förekommer i flertalet födoämnen, t.ex. i olika fiskarter och ostar. I och med att ett flertal mikro-organismer (bakterier, svampar) innehåller enzymatiskt aktivt HDC, kan även dessa syntetisera histamin från födoämnens L-histidin t.ex. i matsmältningskanalen. (2) Histaminkoncentrationen påverkas också av aktiviteten av histamindegraderande enzymer.

Histamin ansvarar för en myriad av fysiologiska händelser i människokroppen. Bland de kändaste är vasodilatation och ökning av permeabilitet i perifera blodkärl, kontraktion av bronkial glatt muskulatur, stimulering av magsyrautsöndringen, neurotransmission i det centrala nervsystemet (CNS) och modulation av immunresponser. (3-5)

Histaminets effekt överförs till cellen via fyra histaminreceptorer, som hör till den stora familjen av G-proteinkopplade receptorer (GPCRs) på cellmembranen. Receptorerna består av extracellulära, transmembrana och intracellulära domäner. Ligandbindande

strukturer finns på den extracellulära sidan av receptorn. Receptorns intracellulära domän binder till olika G-protein, som varierar beroende på receptor- och celltyp. G-proteinernas uppgift är att förmedla den extracellulära signalen från en receptor in i cellen genom att påverka (aktivera/inhibera) olika intracellulära signaltransduktionskaskader, vilket slutligen leder till snabba effekter, såsom frisättning av intracellulärt lagrat kalcium eller fosforylering/defosforylering av proteiner, och/eller långsammare förändringar i gentranskription.

Förutom att histamin binds till G-proteinkopplade histaminreceptorer, har det påvisats att histamin också kan bindas till "okonventionella" proteiner. Således kan histamin binda till enzym från cytokrom P450 superfamiljen, histamintransportörer, och proteiner som utsöndras av insekter (nitroforiner, lipokaliner) (6). Lipokaliner är högt specifika histaminbindande proteiner, som utsöndras av hårda fästingar (Ixodidae), och hjälper sannolikt fästingarna att bättre uthärda framkallade immunresponser (7). Histamintransportörerna VMAT2, OCT2 och OCT3 kommer att behandlas senare i texten.

Histaminreceptor H1 (H_1R) är särskilt känd för sin lokalisation på blodkärlens endotelceller och glatta muskelceller, medan histaminreceptor H2 (H_2R) kännetecknas för sin lokalisation på magsäckens parietalceller. Dessa s.k. lågaffinitetsreceptorer kräver höga lokala koncentrationer av histamin för att aktiveras och förmedlar därför akuta men övergående händelser i kroppen. Högaffinitetsreceptorerna histaminreceptor H3 (H_3R) och histaminreceptor H4 (H_4R) reagerar på histaminmängder som är 1/1000-1/10000 av de koncentrationer som aktiverar H_1R och H_2R . Dessa kan därför antas förmedla effekter av låga histaminkoncentrationer, t.ex. långt borta från det akuta inflammationsområdet och aktiverade mastceller (där histamin kan utöva kemotaxis via högaffinitetsreceptorer), men också mellan plötsliga histaminutsläpp från professionella histaminproducerande celler, under inverkan av icke-professionellt producerat histamin. H_3R har i första hand visat sig vara en presynaptisk autoreceptor i CNS, medan H_4R :er främst finns på celler med hematopoietiskt ursprung, trots att både H_3R och H_4R påträffas även på andra celltyper. Man känner inte ännu till hur höga mikromolära histaminkoncentrationer påverkar H_3R och H_4R , som stimuleras redan av nanomolära histaminkoncentrationer.

Nyligen har det påvisats att GPCRs kan vara internt aktiva utan att en ligand binder sig till receptorn. Denna så kallade konstitutiva (basala) receptoraktiviteten beror på att konformationen av receptorerna varierar spontant mellan en aktiv och inaktiv konformation. I ”vilostadiet” (då en ligand inte binder sig till receptorn) är en del av receptorerna spontant i aktiv och en del i inaktiv konformation, och det råder en jämvikt i konstitutiva signaleringen. Följaktligen kan ligander fungera som agonister, neutrala antagonister eller inversa agonister för receptorerna. Bindningen av agonister främjar aktiv konformation och signal transduktion. Bindningen av neutrala antagonister främjar varken aktiv eller inaktiv konformation, och förändrar inte konstitutiva signaleringen, men tävlar med agonisterna om bindning till receptorerna, med en hindrande effekt på signal transduktion. Bindningen av inversa agonister (som tidigare kallades antagonister) stabiliserar och därmed främjar inaktiv receptorkonformation och inhiberar den konstitutiva aktiviteten. Således minskar inversa agonister den spontana receptoraktiviteten under den konstitutiva signaleringsnivån. (8,9) Alla fyra histaminreceptorer har påvisats vara mera eller mindre konstitutivt aktiva. (10-13)

En del sjukdomar och sjukdomstillstånd förknippas med förändrad utsöndring av histamin från celler, som innehåller sekretkorn. Det är välkänt att histamin deltar i uppkomsten av ett flertal akuta överkänslighetsreaktioner till följd av överdrivna försvarsreaktioner, såsom vid allergisk rinit, astma, omedelbara allergiska hudreaktioner (”wheal and flare”), samt diarré och anafylaktisk chock. (14) Histaminets stimulerande verkan på magsäckens parietalcellers magsyrautsöndring förknippas med magsmältningen, men också starkt med refluxsjukdom och ulcus, och H₂R-antagonister, såsom ranitidin och cimetidin, har varit framgångsrika mediciner vid behandlingen av dessa sjukdomar. Histaminergiska neuroner deltar i regleringen av flera vitala funktioner i CNS, bl.a. inlärning, minnesfunktioner, sömn-vakenhetsreglering och koncentrationsförmåga (15). För tillfället har ändå inte sjukdomar, som direkt associeras till störningar i histaminergiska neurotransmissionen eller histaminreceptorerna i CNS identifierats, men studier med knock-out möss har påvisat t.ex. H₃R:s roll i regleringen av REM-sömn, och således kunde receptormodulation av H₃R vara en ny behandlingsmetod för narkolepsi, fibromyalgi och kronisk trötthetssyndrom (4,16). Histaminreceptorernas roll vid neuroinflammation studeras aktivt. I experimentell allergisk encefalomyelit (EAE), en musmodell för multipel skleros (MS), verkar H₁R och H₄R fungera proinflammatoriskt, medan H₂R och H₃R fungerar anti-

inflammatoriskt i sjukdomsprocessen (17). Huruvida selektiv receptorblockad kunde vara gynnsamt vid behandling av människans MS kräver vidare forskning. För att begränsa denna litterära produktions omfattning kommer neuroinflammation inte att betraktas vidare i texten.

Samband mellan förändrad histaminproduktion och/eller förändrad signalering via histaminreceptorer, och inflammatoriska sjukdomar, såsom Sjögrens syndrom (SS), reumatoid artrit (RA), Crohns sjukdom (CD) och ulcerativ kolit (CU) har kunnat påvisas, men bakomliggande patologiska mekanismerna är i många fall oklara (2,18-20). Forskningssamhället längtar efter mera djupgående preklinisk bakgrunds forskning och kliniska studier för att kunna utreda histaminets och histaminreceptorernas roll vid dessa och andra inflammatoriska sjukdomar.

4.2. Histaminomsättningen i cellerna

Histaminmetabolism

På den senaste tiden har kunskapen om det intracellulära maskineriet som möjliggör skräddarsydd histaminmetabolism för olika vävnaders olika syften ökat markant. En del celler lagrar histamin i sekretkorn (granulae), medan andra syntetiserar histamin i cytoplasman. I cytoplasman produceras histamin eventuellt i nära anslutning till histaminkanaler, som har en viss affinitet för histamin. Histaminkanalerna fungerar som balanserande (koncentrationsgradientberoende) histaminkanaler, och transporten är därför alltid enkelriktad ("equilibrative uniporters"). Histamin produceras ur L-histidin med hjälp av HDC, som är essentiellt för endogen histaminproduktion. Åtminstone två funktionellt relevanta varianter av HDC har kunnat påvisas. Den fullånga posttranslationella 74-kDa isoformen av HDC är enzymatiskt lågaktiv och befinner sig i cytoplasman. 74kDa HDC kan spjälkas proteolytiskt till en 53-kDa HDC isoform som är enzymatiskt aktivare än sin fullånga föregångare. Både 74-kDa HDC och 53-kDa HDC befinner sig på endoplasmatiska retikulum (ER), men endast 53-kDa HDC lokaliseras på intracellulära sekretkorn, sannolikt för att kunna lagra det syntetiserade

histaminet i sekretkornen. Histamin internaliseras i sekretkornen enbart via vesikulär monoamin transportör-2 (VMAT-2). Också här torde den nära fysiska kopplingen mellan histaminproducerande 53-kDa HDC och histamintransporterande VMAT-2 bestämma histaminets fortsatta öde efter syntesen: i denna lokalisering anhopas histaminet i sekretkorn. (21)

Nedbrytningen av histamin sker via två enzymatiskt olika vägar, antingen intracellulärt genom metylering av histaminets imidazolring med hjälp av enzymet histamin-N-metyltransferas (HNMT), eller mestadels extracellulärt genom oxidativ deaminering av histaminets primära aminogrupp med hjälp av diaminoxidas (DAO). 15-30% av histaminets metabolism sker via DAO (14). HNMT finns i många olika vävnader och ansvarar för den intracellulära histaminmetabolismen. Däremot lagras DAO i vesiklar nära cellmembranen i epitelceller och till följd av stimulering kan vesiklarna utsöndras i extracellulära utrymmet, där enzymet ensamt ansvarar för nedbrytningen av extracellulärt histamin. Hos däggdjur har DAO påvisats främst i tunntarmen, colon ascendens, njuren och placenta. I njurtubulusceller lokaliseras DAO i peroxisomer. (2)

Utsöndringen av histamin ur cellerna sker antingen via vesikulär transport av sekretkornen eller via organiska kationtransportör-2 eller -3 (OCT2, OCT3). Histamin kan också utsöndras via plasmamembran monoamintransportör (PMAT/ENT4/SLC29A4), men denna transportör transporterar mera effektivt (med låg affinitet men med hög kapacitet) andra monoaminer, såsom serotonin och dopamin. Utsöndringen (eller intag) via OCT2/OCT3 sker på basen av histaminets koncentrationsgradient över cellmembranet. OCT och PMAT kanalerna har en hög transportkapacitet. T.ex. i människans odlade HSG celler räcker redan en histaminkoncentration på 100 nM till att stimulera OCT3-förmedlat cellulärt upptag av histamin. Å andra sidan, efter uppladdning av dessa celler med 100 nM histamin frigör cellerna sitt cytoplasmatiske histamin, vilket visar att åtminstone OCT3 fungerar redan med rätt så låga histaminkoncentrationer. Extracellulärt histamin kan också upptas i celler, sannolikt via OCT2/OCT3 (SLC22A2/SLC22A3), och detta möjliggör intracellulär degradation och sannolikt också upptagningen av dietärt histamin i cellerna. (21-23)

Histaminproducerande celler

Traditionellt har man trott att mastceller (MC), basofiler, enterokromaffin-lik (ECL) celler och histaminergiska neuron, som alla innehåller sekretkorn eller vesikler, ansvarar för histaminproduktionen i människokroppen. Numera har det påvisats att histamin redan i låga koncentrationer är en viktig immunomodulatorisk molekyl, och att även andra immunologiska celler än MC och basofiler kan producera histamin i en liten skala. Dendritiska celler (DC), T-celler, monocyter/makrofager och neutrofiler producerar histamin (21,24,25). Även andra celltyper än immunförsvarets celler, såsom fetala leverceller, duktala epitelceller i spottkörtlar, sädesceller, epitelceller i bröstvävnad och skelettmuskelceller har påvisats vara histaminproducerande. Detta tyder på att histamin har tillsvidare okända fysiologiska verkningar och dessa effekter kunde framföras av de nyupptäckta H_3R och H_4R med hög histaminaffinitet. Det har proponerats, att histamin kunde verka upprätthållande på fysiologiska homeostasen i spottkörtlar, stimulera hematopoies hos nyfödda, ha modifierande verkan i reproduktiva organ och verka ökande på muskelcellernas anpassning till ansträngning. (21,23,26)

Histaminproducerande celler kan på funktionell basis delas in i två olika grupper: professionella histaminproducerande celler och icke-professionella histaminproducerande celler, vilket ändå bara hänvisar till förmågan att producera histamin, men inte nödvändigtvis till cellerna betydelse för histaminberoende fysiologiska och patologiska processer. Professionella histaminproducerande celler lagrar histamin i sekretkorn i cytoplasman och kan till följd av aktiverande stimuli temporärt utsöndra lokalt höga koncentrationer av histamin. Aktiveringen kan t.ex. orsakas av neuropeptider, mekanisk stimulering och allergiska reaktioner. Icke-professionella histaminproducerande celler utsöndrar 100- 1000-faldigt lägre koncentrationer av histamin, och utsöndringen (eller histaminupptag) sker främst beroende på koncentrationsgradienten mellan intra- och extracellulära utrymmet, till skillnad från reglerad och vanligtvis massiv exocytotisk utsöndring av granulärt förvarat histamin ur professionella histaminproducerande celler. (14,21,23)

Professionella histaminproducerande celler

Till professionella histaminproducerande celler räknas MC, basofiler, ECL celler och histaminergiska neuroner. Dessa celler både producerar och lagrar histamin i sekretkorn i cytoplasman och kan på basen av externa och/eller interna stimuli utsöndra innehållet av sina sekretkorn i sin omgivning. Detta leder till en snabb men rätt så tillfällig ökning i histaminkoncentrationen lokalt ("burst"). Histaminkoncentrationen i vävnaden kan till följd av dessa cellers aktivitet uppnå t.o.m. 50-100 μM , så som man kan kalkylera pga. histamin-förmedlad aktivering av celler som bär histaminreceptorer med låg affinitet (t.ex. H_1R) (27).

Frigjort histamin binder till målcellernas histaminreceptorer (H_1R - H_4R) på cellmembranen. Det frigjorda histaminet, som inte har bundit till histaminreceptorerna, kan metaboliseras av extracellulärt lokaliserat DAO eller förflyttas från extracellulära utrymmet till intracellulära utrymmet på basen av histaminets koncentrationsgradient via OCT2/OCT3. Intracellulärt i professionella histaminproducerande celler kan histamin metaboliseras av HNMT, men det är sannolikt att histamin i dessa specialiserade celler till en del returneras till sekretkorn för att "återanvändas". Transportering till sekretkorn sker enbart via VMAT-2. På grund av det effektiva maskineriet för processeringen av histamin i kroppen är det osannolikt att höga lokala histaminkoncentrationer skulle vara långvariga. Utsöndring av histaminfyllda sekretkorn leder sannolikt till en abrupt, men kortvarig lokal ökning i histaminkoncentrationen.

Icke-professionella histaminproducerande celler

Till icke-professionella histaminproducerande celler hör de celler som inte kan orsaka momentan ökning av histaminkoncentrationen i sin omgivning genom exocytos av histaminfyllda sekretkorn. Till dessa celler hör bl.a. makrofager, neutrofiler, DC, T-celler och duktala epitelceller i spottkörtlar. Histaminsyntesen i icke-professionella histaminproducerande celler sker främst i cellcytoplasman, där den lågaktiva 74-kDa HDC isoformen ansvarar för syntesen. (21,23-25) Det cytoplasmatiske histaminet kan utsöndras ur cellerna på basen av den intra-extracellulära koncentrationsgradienten, som den endogena syntesen leder till (eller egentligen upprätthåller). Utsöndringen sker via

OCT-2/OCT-3. Då extracellulära koncentrationen är högre än den intracellulära, kan histamintransporten via OCT-2/OCT-3 dock ske i motsatt riktning, från extracellulära till intracellulära utrymmet, vilket har påvisats *in vitro* med HSG-celler (en cellinje av människans spottkörtelceller) som odlats i 100 nM radiomärkt histamin (23). Detta beror på att även om OCT-molekylerna namngivits som transportproteiner, vilket ofta hänvisar till en aktiv, energikrävande jontransport mot koncentrationsgradienten, så är de egentligen passiva histaminkanaler ("equilibrative uniporters") och histamin rör sig i princip enligt sin koncentrationsgradient. Det är tänkbart att födans histamin kunde upptas i cellen på detta sätt (6,18).

I professionella histaminproducerande celler syntetiseras och lagras histamin, medan histamin, som produceras i icke-professionella celler utsöndras i takt med produktionen enligt histaminets koncentrationsgradient (21). Således regleras histaminutsöndringen ur icke-professionella histaminproducerande celler åtminstone av faktorer som påverkar HDC-gentranskriptionen och därmed HDC koncentrationen. *In vitro* regleras HDC av cytokiner, såsom IL-1, IL-3, IL-12, IL-18, GM-CSF och TNF- α (14). HDC-aktivitet ändras t.ex. vid infektion, inflammation, och avstötning av transplanterade organ.

Då icke-professionella histaminproducerande celler utsöndrar mera eller mindre kontinuerligt lägre koncentrationer av histamin, är det möjligt och även sannolikt, att låga kontinuerligt producerade histaminkoncentrationer har en annan effekt och receptorpreferens än höga histaminkoncentrationer, som uppstår efter en häftig men övergående frisättning av upplagrat histamin från sekretkorn ifrån professionella histaminproducerande celler. Redan år 1975 upptäckte Clark *et al.* någorlunda paradoxalt, att låga koncentrationer av histamin är kemotaktiska för eosinofiler, medan höga koncentrationer inhiberar kemotaxis (28). Således kunde histamin ha varierande effekter på målcellerna beroende på koncentrationen av histaminet, men förklaringen till fenomenet blev i tiden oklar. Efter upptäckten av H₄R, som har hög affinitet för histamin, har det påvisats att låga koncentrationer på cirka 10-100 nM av histamin orsakar ändringar i cellens form, uppreglering av adhesionsmolekyler (CD11b) och polymerisation av aktin via stimulering av H₄R (29-31). Dessa är indirekta bevis på att stimulering med låga histaminkoncentrationer kan orsaka eosinofilers kemotaxis. Låga koncentrationer av histamin, som kan åstadkommas av icke-professionella histaminproducerande celler, har påvisats orsaka maturation av sekretkorn i MC,

migration av MC, och immunomodulation av DC, makrofager/monocyter, Kuppferceller och basofiler (32).

4.3. Histaminreceptorerna H₁R, H₂R och H₃R

H₁R

Trots att de första antihistaminerna togs i bruk redan på 1940-talet, var det först år 1966 som Ash *et al.* introducerade termen H₁R för den undergrupp av histaminkänsliga receptorer, som kunde blockeras av dåtida första generationens antihistaminer (senare H₁R-antagonister) (33). Iakttagelsen att H₁R-antagonisterna blockerade endast en del av histaminets effekter, såsom kontraktion av glatt muskulatur, men lämnade andra histaminrelaterade effekter opåverkade, t.ex. magsyrautsöndringen, fick forskningsgruppen att föreslå, att histaminet verkar via åtminstone två olika receptorer.

H₁R mRNA kodas av endast en gen som lokaliseras på kromosom 3p25 och H₁R proteinet består av 487 aminosyror (34). H₁R hör till lågaffinitetsreceptorerna, som aktiveras av mikromolära koncentrationer av histamin (35). H₁R kopplar till G-proteinet G_{q/11}, och till följd av att en agonist binder till receptorn bär intracellulära signalen fram via aktivering av fosfolipas C (PLC), vars reaktionsprodukter 1,4,5-inositoltrisfosfat (IP₃) och 1,2-diacylglycerol (DAG) åstadkommer mobilisering av kalcium (Ca²⁺) från intracellulära förråd och aktivering av klassiska och nya (novel) Ca²⁺- och/eller DAG-beroende protein kinas C-molekyler. Aktivering av H₁R kan också stimulera fosfolipas A₂ (vilket frigör arakidonsyra från fosfolipider), fosfolipas D (vilket frigör fosfatidsyra från fosfolipider) och transkriptionsfaktor nukleär faktor kappa B (NFκB). (36) På grund av receptorns interna aktivitet (konstitutivitet) är en del av H₁R på cellmembranen i aktivt tillstånd även utan ligandbindning, men de fysiologiska konsekvenserna av detta har inte klargjorts (10). Eftersom H₁R har naturligt låg affinitet för histamin, kräver aktivering av H₁R närvaro av professionella histaminproducerande celler för att lokalt tillräckligt höga koncentrationer av histamin skall kunna åstadkommas. Utsöndringen

av histaminfyllda sekretkorn (t.ex. från MC) leder till aktivering av H_1R , men verkan är endast tillfällig (minuter-timmar).

H_1R uttrycks främst på epitelceller, endotelceller, glatta muskelceller (omgivande blodkärl, luftvägar, magsäcken och tarmen), neuroner och immunförsvarets celler (eosinofiler, basofiler, neutrofiler/makrofager, MC, DC, T- och B-celler) (37,38). Stimulering av H_1R på endotelceller och glatta muskelceller orsakar vasodilatation och bronkokonstriktion. I CNS deltar H_1R i regleringen av sömn-vakenhetsrytmen, och H_1R har också funktioner som är relaterade till rörelseförmågan. (4,36) Ökad expression av H_1R har noterats i flera sjukdomstillstånd, såsom allergisk rinit och i specifika hjärnområden till följd av stroke. Resultat från provrörsstudier tyder på att H_1R -expressionen förändras vid uppkomsten av ateroskleros. (36) I en undersökning påvisades det att H_1R (och H_4R) i ledhinnan är nedreglerad i reumatoid artrit jämfört med artros (19).

Histamin reglerar inflammatoriska responser och en del av effekterna förmedlas via H_1R . H_1R -antagonisterna, som i vardagligt språk även kallas för antihistaminer, har varit effektiva läkemedel vid behandlingen av allergisk rinit ("hösnuva") och allergisk konjunktivit, och hudreaktioner till följd av utsättning för allergen. CNS-relaterade biverkningar, speciellt sedation, har begränsat användningen av den första generationen av H_1R -antagonister. Dessa H_1R -antagonister är lipofila molekyler med relativt låg molekylärmassa, som penetrerar blod-hjärn-barriären (BBB) väl. I CNS påverkar H_1R -antagonister neuronala H_1R -receptorer, vilket förmodas orsaka biverkningar, t.ex. sedation. Nyare, andra generationens H_1R -antagonister, är mera hydrofila molekyler, och penetransen genom BBB är betydligt mindre. Påföljande är biverkningsprofilen lindrigare. Sedativa biverkningen av H_1R -antagonister har kunnat utnyttjas vid behandling av allergiska sjukdomar och samtidig sömnstörning, men för det mesta är effekten kliniskt ogynnsam. Hjärtmuskelceller uttrycker H_1R och därför kunde H_1R -antagonister även ha ofördelaktiga biverkningar i hjärtmuskeln. Det har ändå inte påvisats att andra generationens H_1R -antagonister skulle orsaka kardiotoxiska biverkningar. (39)

H₂R

Histaminets effekt på magsyreutsöndringen noterades förvånansvärt nog inte i Dale och kollegers banbrytande studier, som karakteriserade histaminets fysiologiska effekter. Senare har histaminets stimulerande effekt på parietalcellernas magsyreutsöndring utforskats intensivt. På 1980-talet orsakade H₂R-antagonisternas entré i kliniken en revolutionär förändring i behandlingsmöjligheterna för magsår och halsbränna. I och med att H₂R-antagonisterna minskade effektivt magsyreautsöndringen, kunde peptiska ulcus och gastroesofageal refluxsjukdom (GERD) behandlas med läkemedel, då behandlingen tidigare varit främst kirurgisk.

H₂R proteinet består av 359 aminosyror, och genen som kodar för H₂R mRNA befinner sig i kromosomloкус 5q35.2 (Entrez Gene, HRH2) (40). Receptorn kopplar till G-proteinet G_{αs}. Bindning av agonist till H₂R stimulerar adenylat cyklas, cAMP, men också c-Fos, c-Jun (som tillsammans bildar aktiverande protein-1/AP-1 transkriptionsfaktorn), proteinkinas C och p70S6kinas. H₂R:s expressionsprofil i kroppen är omfattande. H₂R påträffas på parietalceller, men också epitelceller, endotelceller, glatta muskelceller (omgivande blodkärl, bronker, magsäcken och tarmen), neuroner, hjärtmuskelceller, och immunologiska celler (neutrofiler, eosinofiler, monocyter/makrofager, DC, B-celler, T-celler). (6,14) I CNS är H₂R en postsynaptisk receptor som ofta påträffas i samma områden som H₁R, och dessa verkar eventuellt synergistiskt. H₂R knock-out möss påvisar försvagning i kognitiva och förändring i nociceptiva funktioner. (4) H₂R uttrycks på de flesta av immunförsvarets celler och på eosinofiler och neutrofiler minskar H₂R kemotaxis (39). Stimulering av H₂R minskar utsöndringen av T_H1-cytokinen IL-12 från DC (monocyte-derived DC, MoDC), men detta kan hindras med H₄R-agonister (41). H₂R-aktivering verkar öka T_H2-tolerans och minska mängden T_H2-celler och T_H2-cytokiner (39).

Fysiologiska effekter som förmedlas via H₂R är relaxation av glatt blodkärlsmuskulatur, ökning av vaskulär permeabilitet, ökad slemutsöndring och bronkodilatation i luftvägarna, och effekter på hjärtat (positiv krono- och inotropi, takykardi) (39). H₂R-antagonisterna har en relativt godartad biverkningsprofil och CNS-relaterade biverkningar är inte vanliga, vilket sannolikt beror på att de flesta H₂R-antagonisterna inte är lipofila molekyler, och penetrerar således dåligt BBB.

H₃R

H₃R klonades första gången av Lovenberg *et al.* 1999 (42). Genen som kodar för H₃R finns i kromosomlokus 20q13.33 (43). H₃R proteinet består av 445 aminosyror, men över 20 olika isoformer av proteinet har kunnat påvisas (44-47). Isoformernas fysiologiska betydelse är för tillfället oklar men de kan kanske bidra till användningen av olika signaltransduktionskaskader vid histaminstimuleringen. Intracellulär signalering sker via inhibering av adenylcyklas, aktivering av mitogen-aktiverat proteinkinase (MAPK), ökning av intracellulärt kalcium och aktivering av fosfolipas A₂. H₃R kopplar till G_{i/o} proteinet (44,48,49).

Receptorn uttrycks på histaminergiska neuroner i CNS. Där fungerar H₃R som en presynaptisk autoreceptor och aktivering av H₃R inhiberar utsöndringen av histamin. H₃R förekommer också presynaptiskt på andra neuroner (heteroreceptor), som utsöndrar andra signalsubstanser, såsom acetylcholin, GABA och glutamat. (4,50) Stimulering av H₃R på dessa neuroner inhiberar utsöndringen av respektive signalsubstanser. Alla histaminergiska neuroner i CNS, cirka 64000 hos människan, härstammar från tuberomammillära kärnan, varifrån axon utgår till de flesta andra områden i hjärnan.

Histamin i CNS förknippas med inlärnings- och minnesfunktioner, sömn-vakenhetsreglering, koncentrationsförmåga, mm (4). Således har det varit naturligt att förutspå, att H₃R-modulation kunde påverka sjukdomstillstånd, som drabbar dessa fysiologiska funktioner, såsom minnesstörningar i Alzheimers sjukdom (AD), narkolepsi och hyperaktivitetssyndrom (attention deficit/hyperactivity disorder eller ADHD) (50). Dessutom finns det förhoppningar om att H₃R-modulation i framtiden även kunde ha inverkan på neuropsykiatriska sjukdomar, som t.ex. schizofreni.

Om H₃R:s roll förutom som autoreceptor och heteroreceptor, som påverkar andra, bl.a. kolinergiska, neuroners utsöndring av signalsubstanser: Histaminutsöndring i periferin (MC, ECL celler, glomus-celler av immuna-, gastrointestinala- och kemosensoriska systemet) påverkar perifera nervändor. I *nucleus tractus solitarius* och andra representationer av parasympatiska nervsystemet i CNS moduleras histaminets neuronala aktivitet via H₃R. Histaminergiska neuroner i tuberomammillära kärnan utgör en del av systemet som reglerar sympatiska nervsystemet i CNS, och kontrollerar sympatikoadrenal aktivitet via H₃R. Det har föreslagits att heterosynaptiska H₃R på celler, som innehåller kalcitonin-gen-relaterad peptid (CGRP) i bakhornets smärt- och

temperaturmottagande cellgrupper (DRG) och periarteriella peptidergiska $A\gamma$ -fibrer, kan modulera mekaniska nociceptorer med hög retningströskel, vilket skulle leda till modulation av klåda och nociceptisk smärta. (4)

Inga läkemedel som enbart påverkar H_3R har ännu tagits i kliniskt bruk. Effekten av H_3R inversa agonister vid behandlingen av narkolepsi, sömnstörning vid Parkinsons sjukdom, ADHD, schizofreni, bantning och Alzheimers sjukdom undersöks för tillfället i fas II-III kliniska studier (50). Det är värt att nämna att betahistin, som används vid behandlingen av Ménières sjukdom, verkar svagt agoniserande på H_1R , men är en mera potent invers agonist på H_3R . Ursprungligen tänktes det att läkemedlet verkar genom att öka blodflödet lokalt i innerörat, till följd av H_1R -medierad relaxation av prekapillära sfinktrar på arterioler som förser innerörat, med påföljande ökning i kapillärcirkulationen i öronsnäckan. Åtminstone en provdjursstudie har kunnat påvisa att betahistin ökar blodflödet till öronsnäckan (51). Senare har det påvisats att en del av läkemedelsverkan kan bero på invers agonistisk effekt på H_3R -autoreceptorer i vestibulära kärnan och periferä ändorganet i öronsnäckan. I provdjursstudier har det påvisats att betahistin påverkar afferenta sensoriska signaleringen och utsöndringen av neurala signalsubstanser, vilket kunde främja central compensation och således minska vertigo i Ménières sjukdom (52).

4.4. H_4R

Efter kloningen av H_3R var det flera forskningsgrupper, som identifierade H_4R (13,53-57). Aminosyrasekvensen är till 37 % lik H_3R (58 % i transmembrana regionen) (57,58). H_4R kopplar till det pertussis toxin-sensitiva inhibitoriska $G_{i/o}$ proteinet (59), och signalering via receptorn leder till modulation av flera olika intracellulära signaltransduktionskaskader. Genen som kodar för H_4R lokaliseras till kromosom 18q11.2 (60). Den fullånga H_4R består av 390 aminosyror, och två icke-signaliserande receptorisoformer har identifierats, $H_4(302 \text{ aa})R$ och $H_4(67 \text{ aa})R$. Preliminär data syftar till att koexpression av dessa isoformer kunde delta i nedreglering av fullånga H_4R på cellmembranen, sannolikt via receptoroligomerisation. (58)

H₄R innehar en rätt stor konstitutiv intern aktivitet, vilket betyder att receptorn kan finna sig i ett aktivt tillstånd utan att en ligand har bundit till den. Detta förklaras med att histaminreceptorn ändrar konformation vid bindning till ligand, eller konstitutivt utan bindning till ligand, och receptorn är då i aktivt signallerande konformation ("aktiv" [R^{*}]). Ifall receptorn inte binder till ligand (agonist), eller inte signallerar konstitutivt för tillfället är konformationen inte aktiv ("inaktiv" [R]). (8,9) Den basala eller konstitutiva, signaleringen av H₄R kan med andra ord beskrivas som förhållandet mellan [R^{*}] och [R], och denna basala aktivitet anses vara ungefär 50 % av den totala aktiviteten. Således är ungefär hälften av receptorerna i aktiv konformation [R^{*}], även om ligander inte binder till dem (intrinsic activity). H₄R har hög affinitet för sin naturliga ligand histamin och receptorn reagerar redan på histaminkoncentrationer på 5-10 nM (35,61,62). Det var kanske just på grund av denna höga affinitet för histamin, som det var svårt för forskarna att ursprungligen karakterisera den nya receptorn. Forskningsmetoderna baserade sig på metoder som implementerats för forskning av de traditionella lågaffinitetsreceptorerna H₁R och H₂R. Även om antydning om existensen av en tredje och fjärde histaminreceptor fanns redan länge innan upptäckten av receptorerna, försvårades forskarnas arbete av att både H₃R och H₄R har låg homologi jämfört med H₁R och H₂R (< 30 %).

Intracellulär signaltransduktion via H₄R sker via inhibition av adenylycyklas och påföljande minskning av cAMP (13,53), ökad fosforylering av mitogen-aktiverat proteinkinase (54), och aktivering av PLC med tillhörande ökat utsläpp av intracellulärt kalcium och bildandet av DAG (13,56,57). Det är svårt att dra långtgående slutsatser på basen av intracellulära signaleringsmekanismer till fysiologiska händelser i människans celler. Tillgången till intracellulära signaltransduktionsproteiner i olika experimentella uppsättningar varierar och det kan hända att G-proteiner använder sig av de intracellulära signaltransduktionskaskader som är dem tillgängliga, vilket nödvändigtvis inte återspeglar cellfysiologiska verkligheten. Receptorpopulationen på cellmembranen varierar likväl, och nedreglering/uppreglering av receptorerna kan ske på basis av mekanismer som inte är kända (56,63-65). Detta kan försvåra tolkningen, och gör det svårt att dra slutsatser på basen av receptorernas ligandaffiniteter. I en fysiologisk situation hos människan kan t.ex. receptornedreglering till följd av agonisering/antagonisering ha verkningar som är svåra att förutspå på basen av provrörs- eller provdjursförsök.

Expression av H₄R har framför allt kunnat påvisas på celler med hematopoietiskt ursprung. Både myeloida och lymfoida celler uttrycker H₄R, och främst är expressionen på eosinofiler (13,29-31), MC (66,67), DC (57,68,69), Langerhans celler (LC, dendritiska celler i hudens och slemhinnorna epitel) (70), CD4⁺ (57,71,72) och CD8⁺ T-celler (57,59), natural killer (NK) celler och invariabla natural killer T-celler (iNKT) (68,73). På dessa celler har H₄R påvisats påverka deras verksamhet. H₄R uttrycks på neutrofiler (13,57), och receptorn verkar reglera rekryteringen av neutrofiler från benmärgen i försöksdjursstudier (74,75). Dijkstra och kolleger påvisade att stimulering av H₄R minskade produktionen av CCL2 från monocytter (76). Inga publikationer har ännu påvisat direkta H₄R-relaterade effekter på B-celler, även om låga mängder H₄R mRNA har kunnat påvisas i dessa celler i enstaka studier (57), men åtminstone teoretiskt sett kan H₄R-modulation av andra immunologiska celler indirekt påverka även dessa cellers verksamhet.

Av de icke-immunologiska cellerna uttrycks H₄R i huden på dermala fibroblaster och keratinocyter, på fibroblast- och makrofag-liknande synoviocyter och kondrocyter i ledvävnad, och på acinära och duktala epitelceller i spottkörtlar (18,77). Låg och osammanhängande expression av H₄R mRNA på osteoklaster i benvävnad har påvisats, men huruvida H₄R är funktionellt aktiv på osteoklasterna är oklart (78). H₄R:s expression på neuroner är diskutabelt, men flera nyligen publicerade studier talar för att H₄R även uttrycks på neuroner. H₄R har kunnat påvisas på neuroner i näsans slemhinna hos människan (79), primära vestibulära neuroner hos råttor (52), neuroner i ryggmärgens ventrala horn hos möss (insinuerande expression på motoneuroner) (80), i dorsala rotens ganglier hos möss (insinuerande expression på primära sensoriska neuroner) (81), och i CNS hos människan och gnagare (57,82-84). I en försöksdjursstudie som gjordes på möss, påvisades att H₄R-agonisten 4-metylhistamin (4-MeHA) orsakade hyperpolarisation av neuroner i somatosensoriska cortex (82). En annan studie påvisade expression av H₄R (liksom även H₁R och H₃R) på DRG i hudspecifika sensoriska neuroner hos möss, och stimulering av receptorn orsakade ökning av intracellulärt kalcium (85). I djurmodeller har H₄R-antagonister påvisats ha anti-pruritogen effekt, vilket kan bero på direkt blockerande verkan på fria histaminsensitiva sensoriska nervändor i huden (35). En undersökning har påvisat expression av H₄R mRNA (och även mRNA av H₁R- H₃R) på enteriska neuroner i

submukosala nervplexus hos människan (86). I undersökningen påverkades neuronerna excitatoriskt av H₄R-stimulation.

4.5 Immunförsvarets celler och autoimmuna sjukdomar

Vid uppkomsten av autoimmuna sjukdomar sker en nedbrytning av immunologiska toleransen, men mekanismerna bakom detta har tillsvidare inte kunnat förklaras. En teori är att likheten mellan patogeners antigen och kroppens egna strukturer orsakar att immunsvaret tar fel mellan eget (tryggt) och icke-eget (farligt), vilket resulterar i försvarsmekanismernas skiftning mot autoreaktivitet. Det är också möjligt att kroppsegna molekyler degraderas på ett nytt (patologiskt) sätt, som leder till produktionen och presentationen av kryptogena epitoper (antigena determinanter) som är immunogena, i motsats till den vanliga (fysiologiska) degradationsprocessen, som leder till formationen av dominanta och toleransproducerande epitoper. Även om predisponerande genetiska faktorer har identifierats, är det ändå oklart varför bara en del av populationen drabbas av autoimmuna sjukdomar. För att utreda dessa mekanismer har funktionerna av immunsystemets celler studerats intensivt. Extensiv grundforskning *in vitro* utgör grunden för vår kunskap om immunologiska cellernas fysiologiska verkningar, och flertalet djurmodeller har utvecklats för att simulera autoimmuna sjukdomar hos människan. På basen av korrelativ evidens från populations-baserade studier mellan människor med autoimmuna sjukdomar och friska kontroller, har vissa slutsatser kunnat dras. Trots att det skett en exponentiell ökning i kunskapen om människans komplexa och sammanflätade immunologiska reaktioner, är grundläggande frågorna för autoimmuna sjukdomars förekomst fortfarande obesvarade. Varför reagerar kroppen mot sina egna strukturer och varför drabbas endast en del av oss av autoimmuna sjukdomar? Vilka möjligheter finns för att förebygga uppkomsten av autoimmuna sjukdomar?

Även om naturliga immunförsvarets celler, såsom granulocyter och makrofager, har en andel i patogenesen av autoimmuna sjukdomar, kommer dessa cellers anknytning inte att behandlas i detta sammanhang. Istället koncentrerar texten sig på tre viktiga grupper

av effektorceller vid autoimmuna och allergiska sjukdomar, nämligen mastceller, dendritiska celler och T-celler. För tillfället forskas dessa cellers verksamhet intensivt, och det finns redan läkemedel, som påverkar dessa cellers verksamhet. I framtiden kommer behandlingen av autoimmuna och allergiska sjukdomar, samt t.ex. behandlingen av cancer, sannolikt att innefatta utnyttjandet av dessa cellers proinflammatoriska och immunoregulatoriska potential för att specifikt kunna styra immunförsvarets responser i olika patologiska situationer.

Mastcellen och autoimmunitet

Mastceller (MC) härstammar från hematopoietiska stamceller i benmärgen, som cirkulerar i blodet, och differentieras till mogna MC lokalt i vävnaden. MC påträffas i de flesta vävnader i kroppen, men speciellt befinner de sig perivaskulärt och i närheten av kroppsytorna, omfamnande hudens och slemhinnornas subepiteliala ytor. Lokalisationen möjliggör snabb kontakt med och reaktion till patogener. MC hör till den främsta linjen av immunförsvaret, som mottar arsenalen av attackerande patogener men också olika kommensaler på kutana, bronkiala, gastrointestinala och genitourinala ytor. MC deltar i försvarsreaktioner mot bakterier och parasiter, och sannolikt även virus. (87,88)

MC uttrycker flera olika receptorer på cellytan, som hjälper till med igenkänningen av patogener. Aktivering av MC leder ofta, men inte alltid till utsöndring av sekretkorn, men resultatet kan även vara *de novo* förändrad cytokinproduktion. Toll-likareceptorer (TLR) på MC bidrar till igenkänningen av patogener, och TLR:er aktiveras när de binds till patogen/mikrob-associerade molekyllära mönster (PAMP/MAMP). MC uttrycker flera Fc-receptorer som binder till antigenspecifika antikroppar (IgG, IgE). (87,88) Högaaffinitetsreceptorn FcεRI bildar komplex med IgE på cellytan, och då dessa IgE-Fc receptor-komplex korslänkas till varandra av allergen, aktiveras MC. Allergiska hypersensitivitetsreaktioner sker till följd av korslänkning av IgE - FcεRI -komplex och allergen, med påföljande aggressiv utsöndring av sekretkorn som bl.a. innehåller histamin (89).

Fysiologiska och patofysiologiska kunskapen om MC var länge inrotad i tankesättet, att cellen främst deltar i akuta allergen-inducerade överkänslighetsreaktioner och i

vräkningen av vissa parasiter. Det visade sig ändå att detta tankesätt var en underskattning av MC:s potential. I nutida forskningens sken har MC tilldelats flera nya roller, både som inflammationsfrämjande effektorcell och immunomodulatorisk cell. MC kan påverka mognandet av naiva DC genom att reglera sin cytokinutsöndring i primära immunologiska organ. MC påträffas tillsammans med DC också i sekundära lymfatiska organ. Där kan MC genom att förändra sin cytokinutsöndring aktivera mogna DC, vilket indirekt kan påverka polarisationen av naiva $CD4^+$ T-celler (till T_H1 -, T_H2 - eller regulatoriska T-celler). Via en direkt verkan av utsöndrade cytokiner, kan MC också förstärka DC:s polariserande effekt på naiva $CD4^+$ T-celler. *In vitro* kan MC fungera som antigenpresenterande cell genom att uttrycka antigen-presenterande MHC II-klassens molekyler på cellytan, och följaktligen ha en direkt verkan på naiva $CD4^+$ T-celler. (90) *In vivo* kan antigen-laddade MC uttrycka MHC I-klassens molekyler, och via korspresentation samverka direkt också med $CD8^+$ T-celler (91).

En ökad mängd och/eller aktivitet av MC i affekterad vävnad har rapporterats i flertalet autoimmuna sjukdomar (bl.a. pemfigus vulgaris, systemisk lupus erytematosus, MS, SS, typ I diabetes), men resultaten är till ingen del ännu konklusiva. I MS påträffas ökad mängd MC i inflammatoriska demyeliniserande plackor och depletion av MC i musmodeller för MS leder till förbättring i sjukdomsförloppet. (90) MC kan utsöndra tumörnekrosfaktor-alfa ($TNF-\alpha$), som förmodas attrahera neutrofiler till CNS, vilket kan förvärra inflammationen i MS (89). I peritonit- och pleuritmodeller har det påvisats att inflödet av neutrofiler förmedlas via en indirekt verkan av H_4R på MC (74,83). Receptorverkan via H_1R och H_4R kan orsaka försämring av MS, medan H_2R och H_3R eventuellt fungerar protektivt i sjukdomen (17). H_1R verkar uppregleras i kroniska ”tysta” fall av MS (92). Ett ökat antal MC har påvisats i leder i reumatoid artrit (RA), och utsöndringsprodukterna $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-17A$, $IL-17F$ och tryptas, kan förvärra sjukdomsprocessen. Patologiska samspelet mellan MC och synoviala fibroblaster vid RA kan öka lokala inflammationsresponser, genom utsöndring av kemoattraktanter för neutrofiler och främja utvecklingen av autoreaktiva T_H17 -celler. (89)

Dendritiska celler och autoimmunitet

Langerhans celler (LC), den kanske kändaste undergruppen av dendritiska celler (DC), identifierades redan på 1800-talet av Paul Langerhans. På basen av cellernas stjärnlika

morfologi drog Langerhans slutsatsen, att LC var någon form av nervceller i huden. Det var mera än ett hundra år efter upptäckten av LC, som Ralph Steinmans (senare nobelpristagare i medicin) och kolleger iakttog i sina noggranna studier att speciella ”medhjälpare celler” krävs för att lymfocyter (en blandning av T- och B-celler) aktiveras och producerar antikroppar emot presenterade antigen. Dessa medhjälpare var DC, och till följd av identifieringen av cellerna ökade intresset för dessa tidigare negligerade celler. DC visade sig vara den saknade länken mellan naturlig och adaptiv immunitet, och cellen har numera påvisats vara essentiell både vid uppkomsten av specifika och effektiva lymfocytmedierade immunresponser och uppehållandet av central och perifer immunologisk tolerans.

DC namngavs på basen av deras karakteristiska trädlika struktur med förgrenade utskott, som är essentiella för cellens talrika funktioner. Likt MC, befinner sig DC i vävnader som omger kroppens yttre barriärer, och således påträffas DC i huden och slemhinnor. Den heterogena populationen av dendritceller kan delas in i två stora undergrupper: konventionella DC (cDC) och plasmacytoida DC (pDC). Funktionellt kan de vidare klassificeras till mogna och omogna DC. Mogna DC påträffas främst i sekundära immunologiska organ: i lymfknutor, mjälten och thymus. I periferin påträffas omogna DC, där deras uppgift är att ständigt ta upp och processera molekyler i den omgivande miljön och presentera fynden för andra immunologiska celler, och därför kallas DC även för professionella antigen-presenterande celler (APC). Genom ett effektivt intracellulärt degraderingssystem bryts pino- eller fagocyterade molekylerna inne i DC ned till mindre enheter (t.ex. till peptider från proteiner), varefter innehållet (antigenets epitoper) presenteras på MHC II-komplex på cellmembranen för T-celler. (93) Till följd av att DC möter och internaliserar en främmande molekyl (t.ex. ett ytprotein av en bakterie), aktiveras omogna DC och migrerar via lymfkärl till sekundära lymfatiska organ, och där kommer DC i kontakt med T-lymfocyter. Samverkan mellan DC och naiva T-celler förorsakar klonal expansion av den antigen-specifika populationen av T-celler, som reagerar specifikt för antigenet med sina antigenreceptorer (TCR). DC påverkar utvecklingen av CD4⁺ T-celler (polarisation), vilket kan resultera i interferon-gamma (IFN- γ) producerande T_H1-celler, T_H2-celler som producerar IL-4, IL-5, IL-13, eller IL-17 producerande T-celler (T_H17-celler). Efter upptag och processering av antigen, kan DC också korspresentera epitoper tillsammans med MHC I-molekyler och därmed aktivera CD8⁺ T-celler. Korspresentationen är en

viktig egenskap och möjliggör produktionen av antigenspecifika $CD8^+$ dödar T-celler mot maligna och virusinfekterade celler. (94)

Antigenspecifika B-lymfocyter kan via cellytans immunreceptorer (BCR; cellmembranbundet immunoglobulin) direkt binda ett naivt antigen. Antigen-BCR komplexet internaliseras, antigen degraderas till immunogena epitoper, som presenteras tillsammans med MHC II-molekylen på B-cellsytan till T-celler med samma antigenspecificitet. Då producerar T_H2 hjälparceller sådana cytokiner och andra kostimulatoriska molekyler som leder till proliferation och mognandet av B-cellen till en immunoglobulinutsöndrande plasma cell. (93,94)

Alternativt kan DC främja produktionen av $CD4^+$ $Foxp3^+$ regulatoriska T-celler (T_{REG}) eller IL-10 utsöndrande T-celler (T_R), som dämpar immunresponen, dvs. de deltar i de perifera immuntoleransmekanismerna. Nyligen har samverkan även mellan DC och NKT-celler, och DC och B-celler påvisats. (94)

Immunologisk tolerans innefattar de finslipade mekanismerna, enligt vilka immunsystemet skiljer mellan eget (självantigen, tryggt) och icke-eget (icke-självantigen, potentiellt farligt). Det egna bör försvaras och det farliga, icke-egna elimineras. Immunsystemet påträffar konstant självantigen, och känner i normalt fall igen autologa molekyler, som uppstått t.ex. till följd av en normal, programmerad celldöd (apoptos). Det förmodas att autoimmuna sjukdomar uppstår på grund av en rubbning av den central och/eller perifera immunologiska toleransen, med påföljande immunreaktioner, som är riktade mot kroppens egna vävnader eller ofarliga kommensaler. Människans kropp kan faktiskt uppfattas som ett ekosystem, där antalet av mikrober, som utgör mikrobiomet, är 10 gånger högre än antalet av människans egna celler. DC har o ena sidan som uppgift att känna igen patogener och inflammation, och förstärka immunreaktionerna mot patogener, men o andra sidan att hämma immunreaktioner och främja immunologisk tolerans mot självantigen och normal flora. Immunsystemet har utvecklat flera mekanismer för att uppnå immunologisk tolerans. I kortikala tymus baserar sig selektionen på överlevnaden av immunokompetenta lymfocyter. Där pågår positiv selektion av T-celler som har en lämpligt fininställd reaktivitet mot autologa MHC I- och MHC II-peptid komplex på ytan av kortikala tymusepitelceller (dessa T celler visar senare i periferin immunologisk reaktivitet mot MHC-molekyler då de modifierats eller kompletterats "ordentligt" av främmande

antigena determinanter; det kan uppfattas så att immunokompetenta lymfocyter skall ha en tillräckligt stark basal autoreaktivitet mot MHC-självpeptid komplex, men att tröskelvärde för T cellens aktivering överstigs först när MHC-molekylen modifieras av främmande antigen). Icke-reaktiva eller för lågreaktiva lymfocytkloner fyller ingen funktion och dör bort. (93-95)

Negativ selektion pågår för det mesta i medullära tymus. Central tolerans uppnås genom negativ selektion av T-celler som har alltför hög affinitet för vävnadsspecifika och allmänna autoantigen (och som i periferin skulle reagera mot dessa autoantigen i kroppsegna vävnader; det kan uppfattas så att lymfocyterna inte får ha för starkt autoreaktivitet). Kloner av autoreaktiva T-celler kommer undan dessa mekanismer, som inte är till 100 % effektiva. Reaktionen mot självantigen kan dock undvikas genom perifera toleransmekanismer, som strävar till att tysta ner undkomna eller nybildade autoreaktiva T-celler. Aktiviteten av tolerogena DC (tolDC) har en nyckelroll vid uppkomsten av perifer tolerans, via aktivering och ökning av T_{REG}-celler, och utsöndring av regulatoriska cytokiner som hämmar inflammation. (93,95) Förutom T_{REG}-celler finns det också regulatoriska B-celler (B_{REG}), som strävar till att eliminera autoreaktiva T-celler. Utöver den aktiva regulatoriska självtoleransen kan den perifera toleransen också basera sig på antigen-inducerad anergi av lymfocyter eller antigen-inducerad apoptos av lymfocyter. (93)

Det finns också andra teorier om regulatoriska mekanismer, som t.ex. en som baserar sig på idiotypnätverket. Enligt denna teori innehåller alla TCR och BCR unika och mycket varierande strukturer (idiotoper, som är klonspecifika markörer) som svarar för den specifika bindningen av mångfalden av antigena determinanter (epitoper) till immunreceptorer. T.ex. idiotoperna hos de T-cellskloner som har samma antigenspecificitet, bildar tillsammans en idiotyp som alltså definieras av antigenet. För nedregleringen av immunsvaret börjar immunsystemet bilda blockerande anti-idiotypiska antikroppar och TCR ("interna bilder av antigen"), som binder sig till de för antigenbindande viktiga receptorstrukturer och inhiberar på så sätt bindningen av stimulerande antigena determinanter. (96)

Normala antigen-presenterande DC kan av oklara anledningar förändras till autoantigen presenterande reaktiva DC, som aktiverar autoreaktiva lymfocyter. Det diskuterades ovan att detta kan bero på att man av samma molekyler kan producera både dominant,

tolerogena determinanter och, t.ex. i samband med en virusinfektion, kryptogena, immunogena determinanter. Denna självreaktivitet kan leda till oändamålsenliga immunresponser, som hos genetiskt betingade individer kan resultera i kroniska inflammatoriska tillstånd, autoimmuna sjukdomar. (94)

Vid uppkomsten av autoimmuna sjukdomar har en ökning av vissa cytokiner som utsöndrats av DC påvisats. TNF- α , som är en nyckelcytokin i vissa autoimmuna sjukdomar (t.ex. RA och psoriasis), utsöndras till stor del från hudens DC hos patienter med psoriasis. Ökad utsöndring av typ I interferon (utsöndras till stor del från pDC) associeras med patogenesen i RA, SLE, SS, psoriasisartrit och dermatomyosit. IL-23 är en annan DC-producerad cytokin, som associeras med autoimmuna sjukdomsprocesser, såsom psoriasis och inflammatoriska tarmsjukdomar. (93,94) För tillfället är orsakerna bakom patologisk produktion av omnämnda cytokiner oklara. Klarläggningen av dessa mekanismer öppnar nya möjligheter för medicinsk intervention. Inhibering av antigen-presenterande proinflammatoriska DC, och exploateringen av tolerogena DC och deras immunosupprimerande mekanismer, kan i framtiden möjliggöra nya skraddarsydda behandlingsmöjligheter för autoimmuna sjukdomar.

Omogna och mogna DC uttrycker H₁R-H₄R (14). Dendritceller kan *in vitro* producera histamin, som verkar autokrint på cellernas kemokin- och cytokinproduktion, främjande T_H2-polarisation vid astma. I samklang med detta minskar H₄R antagonism *in vivo* inflammation i ovalbumin (OVA)-inducerad allergisk astma hos möss, med påföljande minskning av eosinofiler och lymfocyter i bronkoalveolärt lavage (BALF). (97) Denna verkan är oberoende av MC, vilket talar för en direkt pro-inflammatorisk roll för DC-utsöndrat autokrint histamin verkande via högaffinitetsreceptorn H₄R. En speciell undergrupp av dendritiska celler, inflammatoriska DC (IDEC), förekommer i hudlesioner hos patienter med atopisk dermatit (AD), och det har observerats att IDEC försvinner efter successiv behandling av lesionerna (98). I akuta fasen av AD härskar en T_H2-medierad inflammation, medan en T_H1-medierad inflammation är karakteristisk för sjukdomens kroniska fas. Expression av H₄R på Mo-IDEC (IDEC, som producerats från monocyter) ökade till följd av interferon-gamma-stimulation och H₄R-agonister inhiberade produktionen av T_H2 kemokin CCL2 och T_H1 cytokin IL-12 (99). Sammanfattningsvis kunde H₄R modulatorer vara effektiva nya läkemedel vid behandlingen av atopisk dermatit och astma hos människan.

Regulatoriska T-lymfocyter och autoimmunitet

T-lymfocyter är centrala effektorceller vid uppkomsten av autoimmuna sjukdomar. På basen av yttre stimuli kan T-cellerna differentieras till olika underklasser (t.ex. T_H1 -, T_H2 -, T_H17 -, T_{REG} - och T_{FH} -celler) med olika cytokinprofiler och olika effekter i inflammationsreaktioner och i samspelet mellan immunförsvarets celler. T-cellernas mognad regleras i tymus så att lämpligt reaktiva T-cellskloner överlever via positiv selektion och autoreaktiva T-cellskloner sällas bort via negativ selektion. Trots detta undkommer T-celler med autoreaktiva självantigenigenkännande T-cellsreceptorer (TCRs) dessa centrala toleransmekanismer. Därför har även andra mekanismer, som fungerar utanför tymus (perifera toleransmekanismer) utvecklats. Perifera toleransmekanismer motverkar reaktioner mot självantigen, vilka annars kunde leda till förstörelse av egen vävnad och autoimmuna sjukdomsmanifestationer.

Interna biokemiska och genetiska förändringar kan hämma autoreaktiva T-cellers responser vid aktivering av autoreaktiva TCR:er (klonal anergi). Således kan expressionen av t.ex. CD5 och cytotoxiskt T-lymfocyt antigen 4 (CTLA-4) receptorer öka på autoreaktiva T-cellers cellyta, vilket hämmar TCR-medierade responser mot självantigen (100). I perifera immunologiska organ främjar tolerogena DC (tolDC), B_{REG} - och T_{REG} -celler immunologisk tolerans, genom att hämma och eliminera autoreaktiva lymfocyter (93).

TolDC kan främja uppkomsten av T_{REG} -celler genom att producera anti-inflammatoriska stimuli, såsom TGF- β och IL-10, och tolDC kan också hämma T_H17 -responser och minska $CD4^+$ T-cellers reaktivitet till specifika antigen. T_{REG} -celler kan uttrycka molekyler (såsom IL-10 och TGF- β) och receptorer på cellytan (t.ex. CTLA-4), som verkar anti-inflammatoriskt. T_{REG} -celler och DC samtalar sinsemellan, och t.ex. kan T_{REG} celler minska expressionen av kostimulatoriska molekyler på DC, vilket främjar immunologisk tolerans. (93)

Histamin påverkar både $CD4^+$ och $CD8^+$ T-cellers aktivitet, och verkan sker främst via H_1R , H_2R och H_4R . Det har påvisats, att histamin frigjort från mastceller, dvs. höga histaminkoncentrationer, främjar T_H1 -immunresponser och inhiberar T_H2 -immunresponser. T_H1 -främjande polarisering åstadkoms via H_1R , och sannolikt inhiberar H_2R -stimulation både T_H1 - och T_H2 -typens immunresponser. (101) Histaminets påverkan på T-cellernas cytokinproduktion kan inte entydigt tolkas, och

ämnet kräver vidare forskning. Histamin har påvisats öka utsöndringen av T_H1 -cytokinen IFN- γ och T_H2 -cytokinen IL-13 via H_1R , medan H_2R -stimulering inhiberar deras utsöndring. Stimulering av H_2R minskar utsöndringen av T_H2 -cytokinerna IL-4 och IL-5, medan utsöndringen av T_H2 -cytokinen IL-10 ökar. (102) Stimulering av H_2R och H_4R på $CD8^+$ T-celler ökar produktionen av IL-16 (en lågaffinitets Fc receptor för Fc-delen av IgG), som är en känd cytokin i patogenesen av astma (59).

H_4R har påvisats på T_H1 -, T_H2 - och T_H17 -celler, men expression av H_4R på T_{REG} -celler har inte tillsvidare rapporterats (103). I en undersökning orsakade H_4R -agonister rekrytering av T_{REG} -celler till vävnad och ökning av produktion av IL-10 (104). Den bakomliggande mekanismen för detta klargjordes inte, och rekryteringen kunde ha berott på indirekt verkan t.ex. via förändringar i funktionerna av DC. Stimulering av H_4R på T_H17 -celler ökar utsöndring av IL-17A och inducerar intracellulärt aktiverande protein 1 (AP-1). T_H17 -celler har påvisats i hudlesioner i psoriasis och i akut atopisk dermatit. (105) På T_H2 -celler leder stimulering av H_4R till ökning av IL-31-utsöndring, som kan orsaka klåda (103). Dessa, och andra resultat förespråkar H_4R :s roll vid moduleringen av T-celler, som är förknippade till inflammatoriska hudsjukdomar. H_4R har också påvisats på invariabla naturliga mördar T-celler (iNKT-celler) och naturliga mördarceller (NK-celler, som inte är T-celler, utan en speciell subpopulation av naturliga immunitetens celler), och H_4R kan förmedla NK-cellers kemotaxis (68,73). Även om detaljerade funktionella uppgifterna är bristfälliga har iNKT-celler förknippats med autoimmuna sjukdomar, såsom primär biliär cirros (PBC), psoriasis, MS, SS, SLE och RA. I djurmodellen för PBC har iNKT-cellerna en nyckelroll vid initieringsfasen av sjukdomen, medan iNKT antas spela en roll främst i kroniska sjukdomsförloppet av andra autoimmuna sjukdomar. Sjukdomsfrämjande verkan kan bero på oändamålsenlig aktivering av iNKT-celler (t.ex. i psoriasis), men också på defekter i iNKT-cellers immunreglerande verkningar (t.ex. MS, RA). (106)

4.6 Histamin, H₄R och allergiska och autoimmuna sjukdomar

Astma

Astma är en kronisk inflammatorisk sjukdom av kontraktila små luftvägar (bronkioler), där flertalet celler, speciellt eosinofiler, mastceller och T lymfocyter, deltar i sjukdomsprocessen (107). Personer som drabbas av sjukdomen har återfallande episoder av luftvägssymptom, med andnöd, hosta och vinande andning. I sjukdomsbilden hos patienter med allergisk astma (den vanligaste gruppen astmatiker) ingår att olika externa stimuli (bl.a. allergener, såsom pollen) kan orsaka akuta astmatiska symptom. Dessa allergener verkar direkt på sensitiserade mastceller och basofiler i luftvägarna via IgE molekyler som har bundits av IgE receptorer (FcεRI). Detta leder till utsöndring av proinflammatoriska kemokiner, såsom histamin, och därför är mängden histamin i bronkoalveolärt lavage ökat i astma. Proinflammatoriska kemokiner, histamin och andra mediatorer, bl.a. olika eikosanoider, orsakar bronkokonstriktion, vasodilatation, ökning av vaskulär permeabilitet och ökad slemutsöndring i luftvägarna, dvs. obstruktion av luftvägar, som är ett karakteristiskt symptom för ett akut astmatiskt anfall. Cytokiner och kemokiner som utsöndras av MC och basofiler, och eventuellt DC, vid ett akut astmatiskt anfall lockar inflammationsceller till luftvägarna. Kronisk astmatisk inflammation karakteriseras av ett överlopps inflöde av CD4⁺ T-celler, eosinofiler, neutrofiler och makrofager i luftvägarna, och CD4⁺ T-cellers T_H2-polarisation. T_H2-interleukinerna IL-4, IL-5 och IL-13 ökar, vilket driver den eosinofila IgE-medierade immunresponsen (108).

Histamin kan orsaka bronkokonstriktion, öka extravasation från blodkärl och öka slemutsöndring i luftvägarna. Med andra ord kan histamin orsaka symptom som har påfallande likheter med symptomen vid akuta astma-anfall. Det är således naturligt att histamin anses vara essentiellt i sjukdomsprocessen. Bronkokonstriktion och ökning av extravasation kan orsakas av H₁R-stimulation, men trots det har H₁R-antagonister varit ineffektiva vid behandling av astma (35).

H₄R har påvisats på de flesta immunologiska cellerna, inklusive de celler (eosinofiler, basofiler, makrofager, DC, T-celler), som antas vara relevanta i patofysiologiska förloppet i astma (59). Stimulering av H₄R orsakar kemotaxis av MC (66) och

eosinofiler, och ökar mängden adhesionsmolekyler på eosinofiler (29-31). H₄R mRNA har också påvisats på icke-immunologiska odlade cellinjer från lungorna, såsom på glatta muskelceller, epitelceller och endotelceller, och även dessa celler är relevanta vid uppkomsten av sjukdom och symptom i astma (59).

Funktionellt kan sjukdomsprocessen i astma (likt andra atopiska sjukdomar) delas i två olika faser: sensibiliseringsfasen och utmaningsfasen. Vid sensibiliseringsfasen påträffar kroppen allergenet, vilket leder till en systemisk immunrespons, som resulterar i produktion av allergenspecifika IgE immunoglobuliner. I lungornas lymfknotor observeras en ökning av CD4⁺ T-celler, CD8⁺ T-celler, och B-celler. Mängden infiltrerande leukocyter i lungorna förändras inte till följd av sensibiliseringen. Däremot observeras en ökning av IL-16 produktion och lagring i lungornas epitelceller, men utsöndring av IL-16 kan inte observeras i BALF. Dessa är processer som sker före återkommande möten av samma allergen. Vid utmaningsfasen ökar mängden IL-16 i BALF, vilket påvisats hos både människan och i djurmodeller. (109)

Histamin stimulerar produktionen av IL-16 i lungeepitelceller och CD8⁺ T-celler. Histaminets stimulerande verkan på CD8⁺ T-cellerna förmedlas via H₂R och H₄R, men vid astma härstammar största delen av IL-16 förmodligen från epitelceller. (59,110) Mängden IL-16 i BALF korrelerar hos astmatiker positivt med CD4⁺ T-cellsinfiltrat (110). Detta är logiskt, då IL-16 binder till CD4-receptorn som uttrycks av CD4⁺ T-celler. Hos astmatiker främjar utsöndring av IL-16 således rekrytering av CD4⁺ T-celler (och andra celler som uttrycker CD4) till lungorna. Huruvida IL-16 har pro- eller anti-inflammatorisk verkan i astma är diskutabelt och studier som förespråkar en immunomodulatorisk roll för IL-16 har publicerats. I OVA-sensitiserade möss ledde intratrakeal administrering av IL-16 före utmaning med OVA till en minskning av inflammationsceller i lungvävnaden och minskade T_H2-cytokinen IL-5 i BALF (111). Detta kunde bero på att IL-16 främjar migration och *de novo* induktion av T_{REG} celler (112).

DC fungerar som en viktig länk mellan den naturliga och adaptiva immunresponsen genom sin reglerande verkan på T- och B-lymfocyter ("skolning"). DC-utsöndrade kemokiner och cytokiner kan locka naiva (T_H0) CD4⁺ T-celler till lungorna och främja polarisering till T_H1-, T_H2-, T_H17- eller regulatoriska T-celler (T_{REG}). Således har DC kapaciteten att verka pro-inflammatoriskt, immunosuppressivt eller tolerogent, men

mekanismerna bakomliggande valet av T-cellsartilleri är oklara. *In vitro* kan histamin orsaka migration av MoDC via H₂R och H₄R (41). I samma studie påvisades att stimulering av H₄R på MoDC inhiberar produktionen av T_H1-cytokinen IL-12 och främjar således en T_H2- cytokinmiljö. Lundberg *et al.* screenade för förändringar i genexpression i MoDC till följd av histaminstimulering och likt tidigare resultat ökade expressionen av en del T_H2-relaterade cytokiner, såsom TNF- α och transformerande tillväxtfaktor- β 2 (TGF- β 2) (113). TNF- α orsakar inflöde av eosinofiler i luftvägarna, och TGF- β 2 förknippas med ommodellerings-fenomenet ("remodelling") i luftvägar vid astma. Histaminstimulation orsakade också förändrad genexpression av kemokiner och cytokiner som är relaterade till T_H1-, T_H17- och T_{REG}-medierade immunresponser. Det påvisades också att histamin kan orsaka maturation av omogna DC, och att effekten förmedlas via H₁R och H₄R. I provrörsförhållanden inhiberade neutrala H₄R-antagonisten JNJ7777120 allergen-specifika T-celler till följd av allergen-provokation, vilket är speciellt intressant med tanke på H₄R-antagonisters potential som läkemedel vid behandlingen av allergiska sjukdomar och astma. Produktionen av mastcellsensitiserande IgE-antikroppar i en T-cellsberoende och B-cellsförmedlad (plasma cell) immunreaktion kopplas till omedelbara allergiska typ I immunreaktioner, som förmedlas av allergen och IgE-sensitiserade mastceller.

Histaminreceptormodulatorernas (H₁R-H₄R-agonister/antagonister) verkan i astma har studerats med hjälp av den astmatiska musmodellen (OVA-sensitiserade möss). I en av studierna med musmodellen lindrade H₄R-antagonistbehandling och knock-out av H₄R genen (H₄R^{-/-}) OVA-inducerad inflammation jämfört med kontrollmöss. Till följd av H₄R-antagonism minskade mängden infiltrerade eosinofiler och lymfocyter i lungorna, och *in vitro* minskade utsöndringen av T_H2-relaterade cytokinerna IL-4, IL-5, IL-13, och även cytokinerna IL-6 och IL-17. Sannolikt förmedlades effekterna via inhibition av H₄R på DC, vilket minskade dendritcellernas T_H2-polariserande verkan på T_H0-celler. (97)

Motstridiga forskningsresultat har även publicerats. Morgan *et al.* påvisade att inhalation av 4-MeHA, en *agonist* på H₄R och H₂R (med ca.100-faldig preferens för H₄R), orsakade dämpning av OVA-inducerad inflammation i lungorna, sannolikt pga. den observerade proportionella ökningen av infiltrerade T_{REG} celler i lungorna. Skribenterna ansåg att diskrepansen mellan tidigare studier och resultatet kunde ha berott på skillnaden i administrationsrutten. Inhalerat 4-MeHA orsakar en

koncentrationsgradient för celler som uttrycker H₄R och H₂R, vilket får cellerna att anhopas lokalt i lungorna, medan systemisk (eller genetisk) inhibition av H₄R sannolikt inte orsakar motsvarande lokala koncentrationsskillnader. (104)

Jämförelse av resultat från olika försöksdjursstudier sinsemellan är problematiskt pga. skillnader i den experimentella uppläggningsen och det är därför svårt att dra långtgående slutsatser. Det är svårt att förutspå huruvida lokalt höga koncentrationer av 4-MeHA, som främst har påverkan lokalt i lungorna, kan relateras till en systemisk dämpning av H₄R på immunologiska och andra celler som uttrycker H₄R, och det är svårt att dra långtgående slutsatser av resultaten som åtminstone dels tycks motsäga varandra. Dessutom är 4-MeHA även aktiv på H₂R, och således är det svårt att utesluta effekten av denna receptorpåverkan på resultaten. Det är ändå värt att notera, att lokala koncentrationsskillnader av administrerade agonister verkar främja immunsuppression via direkt attraherande verkan på T_{REG} celler, eller indirekt via effekter på DC i lungan. H₄R:s distribution i musens vävnader skiljer sig från människans, och proteinhomologin mellan musens och människans H₄R protein är endast 68 %, och således har H₄R-liganderna en betydande skillnad i receptoraffinitet mellan olika djurarter (114). Ämnet kräver vidare forskning, och framför allt kliniska studier, då det är omöjligt att direkt tillämpa resultat från OVA-modellen till människans astma. De första kliniska studierna med H₄R-antagonister har påbörjats och resultaten avvaktas entusiastiskt.

Allergisk rinit

Allergisk rinit (AR) kännetecknas av återkommande symptom, såsom nysningar, rinnsnuva (rinorré), nästäppa och klåda i näsan. AR undergrupperas till säsongsbunden AR (SAR, från engelska ”*seasonal allergic rhinitis*”, på svenska även hösnuva) och icke-säsongsbunden (persistent eller perenn allergisk rinit). AR har en stark genetisk komponent, och de genetiskt betingade har en benägenhet att utveckla IgE – MC – T_H2-medierade immunresponser till följd av sensibilisering och därefter följande utsättning för allergen. Vanliga sjukdomsassocierade allergen är fekala proteiner från dammkvalster, katt- och hundfjäll, och växters pollen. Centrala mekanismer vid sensitiseringsfasen av sjukdomen är APC:s presentation av allergenet till T_H0-celler och främjandet av deras polarisering till T_H2-celler. Påföljande sker en ökning i IL-3, IL-4, IL-5 och andra T_H2-cytokiner, vilket ökar produktionen av antigen-specifikt IgE. I AR

påträffas ökad infiltration av MC, eosinofiler och plasmaceller i nasala slemhinnan. (115) Sjukdomssymptomen beror på en oändamålsenlig immunrespons till följd av utsättning för allergen efter att immunförsvarets har sensitiserats. Huruvida basofiler har en roll vid uppkomsten av AR känns dåligt till, men enstaka forskningar har påvisat att basofiler förekommer i nasalt lavage (NLF) hos patienter med AR (116). AR är en vanlig sjukdom, och världsomfattande estimeras t.o.m. över 600 miljoner människor lida av åkomman. Lokalt eller systemiskt administrerade H₁R-antagonister, lokala beta-agonister (pseudoefedrin) och lokala kortikosteroider utgör grunden för behandlingen av AR i dagens läge.

Histaminreceptorernas expression i nedersta näsmusslorna hos människan har studerats med hjälp av immunohistokemisk färgning. H₁R uttrycks på epitelceller, endotelceller och nerver, H₂R på epitelceller och körtlar (slemutsöndring), och både H₃R och H₄R uttrycks på nerver (79). *In vitro* har det föreslagits att H₃R deltar i regleringen av nasala slemhinnans homeostas, och påverkar slemutsöndringen (117). I prekliniska studier har en eventuell effekttökning kunnat påvisas vid behandlingen av AR med duala H₁R/H₃R-antagonister, jämfört med H₁R-antagonister. I en nyligen publicerad klinisk fas II studie jämfördes effekterna mellan ett kombinerat preparat med dual antagonistisk påverkan på H₁R och H₃R, med H₁R-antagonisten cetirizin, vid behandlingen av provocerad AR (patienterna utsatts för allergen i en exponeringskammare), men effekten av det kombinerade preparatet var högre än av cetirizinets (118).

Prekliniska studier på djurmodeller har påvisat H₄R-antagonisters effekt vid behandling av experimentell AR. Vid upprepad lokal administrering minskade H₄R-antagonisten JNJ7777120 effektivt nasala symptom (nysningar, skrapning av nosen) redan med dosen 1 nM/sida (119). Peroral upprepad administration av JNJ7777120 minskade serum IgE koncentrationen. Samtidigt kunde en minskning av IL-4 och ökning av IFN- γ observeras i NLF, vilket är intressant då det har påvisats att IL-4 främjar och IFN- γ hämmar B-cellers IgE-produktion. Således kunde H₄R-antagonisten direkt eller indirekt (eventuellt via DC) hämma B-cellernas funktion via förändringar i cytokinproduktionen från andra celler. Även om histaminreceptorernas roll i patogenesen av AR fortfarande är bristfälligt känd, har H₁R i kliniskt bruk och H₄R i djurmodeller påvisat effekt vid behandlingen av sjukdomen. Således borde följande steg vara att evaluera H₄R effekter (eventuellt kombinerat med H₁R-antagonister) i kliniska prov.

Problemet med behandlingen av allergisk rinit med nya H₄R-antagonister är att grundläggande mekanismerna bakomliggande behandlingseffekterna i djurmodeller till stor del är okända. H₄R har nyligen identifierats på synaptosomen i hamsterns hjärtmuskel (120). I funktionella studier ledde stimuleringen av H₄R till inhibering av inducerad degranulering av katekolaminer ur sympatiska nervändor, och det är rimligt att tänka att det samma också kunde stämma för sympatiska nervändor annanstans i kroppen. I så fall skulle H₄R antagonism i näsmusslan orsaka ökad lokal katekolaminutsöndring, vilket skulle lindra nästäppan vid nasala kongestiva tillstånd, som t.ex. AR. Således skulle verkningsmekanismen motsvara sympatomimeters (t.ex. pseudoefedrin) effekt, som redan nu används vid behandling av nästäppa. Enstaka studier har implicerat H₄R-expression på sensoriska nervändor (79) och funktionell verksamhet på primära sensoriska neuroner hos möss (81). I provdjursstudier har inhibering av H₁R och H₄R (antagonister, knock-out möss) påvisat antipruritogen effekt, och en direkt pruritogen verkan av histamin (via H₁R och H₄R, och eventuellt H₃R) på sensoriska nervändor har proponerats (35,85,121). Således kunde H₄R-antagonister ha direkt verkan på perifera terminalerna av primära sensoriska neuroner, vilket följaktligen kunde minska symptom i AR (nysande, klåda).

På grund av immunomodulatorisk verkan kan H₄R-antagonister ha effekt på långtidsförloppet av AR. Patogenesen i AR kännetecknas av en inadekvat IgE – MC – T_H2-förmedlad immunrespons, som hos atopiker ofta är genetiskt betingad (115). H₄R kan orsaka MC:s och eosinofilers kemotaxis, och i flera undersökningar har H₄R-stimulation främjat T_H2-polariserade immunresponser. I en djurmodell för AR minskade H₄R-antagonism den totala IgE-mängden i blodet. Alla dessa resultat talar för att H₄R-antagonister kunde verka gynnsamt både med tanke på behandlingen av akuta och kroniska förloppet i AR hos människan.

Allergiska ögonsjukdomar

Allergiska ögonsjukdomar karakteriseras av klåda, sveda, rodnad, ökat tårflöde och svullnad av bindhinnan (l. conjunktiva) och ögonlocken. Termen ”allergisk ögonsjukdom” innefattar egentligen flera undergrupper av sjukdomar, som kliniskt skiljer sig från varandra. De vanligaste är säsongsbunden allergisk konjunktivit (SAC) och perennial (persisterande) allergisk konjunktivit (PAC), vilka är milda allergiska

sjukdomar. Vid vernal (vårlig) keratokonjunktivit (VKC) och atopisk keratokonjunktivit (AKC) kan även hornhinnan inflammeras, och sjukdomarna kan således potentiellt skada synen. Komorbiditet mellan AKC och atopisk dermatit, urtikaria, astma och allergisk rinit är vanligt. Gemensamt för patogenesen i alla former av allergiska ögonsjukdomar är aktivering av bindhinnans MC och rekrytering av eosinofiler till ögats yta. Liksom vid andra allergiska sjukdomar manifesteras allergiska ögonsjukdomar till följd av oändamålsenliga IgE – MC – T_H2-medierade immunresponser. Sensibilisering till allergen (växtpollen, djurfjäll) är centrala i patogenesen av SAC och PAC, medan det hos en stor del VKC-patienterna inte kan påvisas specifik sensibilisering till allergen. Trots det är inflammationen i VKC T_H2-driven, men uppkomstmekanismen är ”intern”. I VKC påträffas ökad histaminkoncentration i tårvätska och ökning av infiltrerade inflammationsceller (122). Således kan ökad histaminutsöndring i tårvätskan vara en orsak till remodelling-fenomenet i vävnaden, som medföljer kroniska sjukdomsförloppet. Lokala och perorala H₁R-antagonister, kortikosteroiddroppar och läkemedel som stabiliserar MC (t.ex. kromoglikat- och nedokromildroppar) utgör grunden för behandlingen av allergiska ögonsjukdomar. I svåra kroniska fall kan kalcineurinhämmare användas och vid svår SAC kan hyposensibilisering utnyttjas för att öka immunologiska toleransen för allergen. (123)

Resultat från en musmodell, som undersökte effekterna av H₁R- och H₄R-modulation på histamin-inducerad (2-10 µM) klåda (antalet skrapningar) och kliniska symptomsvårigheten (ödem och hyperemi) har publicerats (124). Lokalt administrerat levokabastin (H₁R-antagonist) och JNJ7777120 (H₄R-antagonist) minskade dosrelaterat skrapningsresponsen, men endast levokabastin minskade signifikant kliniska symptom. JNJ7777120-behandlade gruppen hade i regel mindre symptom än obehandlade kontroller, men resultatet var inte signifikant. Då H₁R- och H₄R-antagonisterna administrerades samtidigt, var inhiberande verkan mera potent än då någonda av antagonisterna användes skilt. Leonardi *et al.* jämförde expressionen av histaminreceptorer hos patienter med VKC och normala kontroller (122). Med hjälp av immunohistokemisk färgning kunde H₁R-, H₂R- och H₄R-expression påvisas på cellerna i bindhinnan både i VKC- och i kontroll-gruppen, men en signifikant ökning av receptorernas expression påvisades i VKC-vävnad jämfört med kontrollerna. Kvantitativ analys av mRNA påvisade femfaldig ökning av H₂R och H₄R i VKC.

Expression av H₄R ökade speciellt på stromala inflammatoriska celler. Ökning av H₁R noterades främst på vaskulära endotelceller.

Aktuell forskningsdata tyder på att H₄R-modulation kunde vara nyttigt vid behandlingen av allergiska sjukdomar. Inga kliniska studier har tillsvidare publicerats, men det finns förväntningar om att H₄R-modulatorer i framtiden hittar sin plats som läkemedel vid behandlingen av bl.a. allergiska ögonsjukdomar.

Histaminreceptorer och uppkomsten av pruritus

Pruritus (klåda) är ett vanligt sjukdomssymptom. Klåda förknippas med flertalet hudsjukdomar, såsom kronisk urtikaria och atopisk dermatit. Även i sjukdomar, som inte i första hand drabbar huden, t.ex. i autoimmuna, neurologiska och metabola sjukdomar, förekommer klåda. I en del hudsjukdomar är histaminkoncentrationen lokalt förhöjd i huden (125). Histaminets förmåga att orsaka klåda i huden och på slemhinnor är väl känt, men även flera andra endogena (och exogena) molekyler, t.ex. gallsyror, proteaser, leukotriener, cytokiner och aminer kan orsaka klåda (126).

Mekanismerna bakom uppkomsten av klåda har inte ännu kunnat förklaras utförligt. Det var inte länge sedan, som klåda ansågs vara en speciell form av smärta. Till följd av identifikationen av en subpopulation av histaminkänsliga omyeliniserade C-fibrer med låg impulshastighet (127), anses klåda numera vara en skild sinnesförmimelse. Dessa specifika nociceptorer hör till neuronerna som inte är mekanosensitiva (4,127). Överensstämmande med fyndet av subpopulationen primära sensoriska neuroner som reagerar på histamin, har spinothalamiska (STT) neuroner i ryggmärgens bakre horns lamina I, som är känsliga för histamin, men okänsliga för mekanisk och termal stimulering identifierats hos katten (128). Impulserna överförs i CNS via thalamus till bl.a. somatosensoriska cortex (129). Förgrenade nerver och nervterminaler av ”pruritogena” histaminkänsliga primära sensoriska neuroner finns i huden, och aktiveringen kan sannolikt ske via H₄R (se nedan).

Neuronsystemen som ansvarar för smärtimpulsen och impulsen för klåda är i växelverkar med varandra, och växelverkan är ofta antagonistisk. Till exempel är det väl känt att smärta (mekanisk, termisk, kemisk) kan inhibera klåda, och om andra sidan kan intraspinal smärtlindring med μ -opioider förorsaka klåda. Temperaturkänslig

signalering kan modulera pruritogena impulser, och således kan kyla orsaka lindring av klåda. (129)

Som en naturlig följd av H₁R-antagonisternas effekt vid behandlingen av urtikaria, har H₁R:s roll vid uppkomsten av klåda proponerats. Symptomlindrande effekten kan åtminstone dels bero på den sedativa verkan av H₁R-blockad i CNS. H₁R deltar också i den centrala processeringen av klåda, vilket har noterats i studier med H₁R^{-/-} möss (4). Däremot har även andra generationens icke-sedativa H₁R-antagonister, som penetrerar BBB dåligt, påvisat antipruritogen effekt, och detta antyder för även andra än centrala funktionella vekningsmekanismer för H₁R vid uppkomsten av klåda. H₂R på perifera neuroner verkar inte ha en direkt roll vid uppkomsten av klåda, men deltar (likt H₁R) i förmimmelsens processering i CNS (4). Även om H₃R på basen av sin överflödande neuronala distributionsprofil (påvisad både i CNS och på perifera neuroner) väl kunde ha en roll i uppkomsten och bearbetningen av perifera pruritogena signaler, är anknytningen till pruritus för tillfället oklar (121,130,131). En undersökning har publicerats, som påvisade en funktionell H₃R (likt H₁R och H₄R) på hudspecifika sensoriska neuroner hos möss (85). Inhibition av H₃R orsakade ökning i intracellulärt kalcium, vilket stämmer överens med att selektiva H₃R-inversa agonisten pitolisant orsakade akut klåda hos möss. Klådan kunde blockeras totalt genom samtidig användning av H₁R- och H₄R-antagonister. Således postulerade forskningsgruppen, att histaminorsakad klåda sannolikt kan uppstå via invers agonism på H₃R, vilket orsakar ett sänkt excitatoriskt tröskelvärde på cellen, vilket aktiverar H₁R och H₄R.

H₄R:s expression på neuroner har varit ett kontroversiellt ämne, men även en del av de ursprungliga forskningsgrupperna, som karakteriserade H₄R, påvisade expression i nervsystemet (55,60). I och med att forskningsmetoderna för att studera H₄R har utvecklats, har flera forskningsgrupper publicerat resultat som stöder receptorns expression på neuroner i CNS (82-84) och perifera neuroner (79-81,83). Funktionell aktivitet på neuroner har också rapporterats (81,82). I provdjursmodeller för pruritus har det påvisats att histaminets pruritogena effekt kan förmedlas via H₁R, H₃R och H₄R, som sannolikt uttrycks på perifera terminalerna av primära sensoriska nervändor i huden, och att histaminets pruritogena effekt förmedlas direkt via aktivering av neuronerna (35,85,121).

Atopisk dermatit och inflammatoriska hudsjukdomar

Expression av H₄R har påvisats i de flesta cellerna i huden, och inflammatoriska celler förknippade med inflammatoriska hudsjukdomar. Epitelceller (keratinocyter), dermala fibroblaster, MC, eosinofiler, dermala DC, LC och nervceller i huden uttrycker H₄R (66,67,70,99,132,133). Funktionell reglering av H₄R expression på cellerna verkar variera på basen av differentiering och lokalisation, samt beroende på yttre stimuli (eventuellt till följd av förändrad cytokinutsöndring i hudens celler). I keratinocyter verkar signalen för H₄R stärkas, då cellerna från basala cellager förflyttas mot ytan (133). Stimulering med lipopolysackarider och indometacin ökar mängden H₄R mRNA, och stimulering med dexametason ökar mängden H₄R protein *in vivo* på dermala fibroblaster (132). H₄R har således en funktionell roll i hudens celler och därför även en eventuell roll i hudsjukdomars patogenes.

Ökad lesional histaminkoncentration jämfört med kontroller har rapporterats i allergisk kontaktdermatit, psoriasis, urtikaria (köld, kronisk idiopatisk) och i omedelbara allergiska hudreaktioner efter exponering till allergen i prick-test (35,125). I AD är forskningsresultaten kontroversiella, och enstaka äldre studier har påvisat ökad histaminkoncentration i hudlesioner, medan nyare publikationer inte har lyckats reproducera resultaten. Det har också rapporterats att lokalt administrerat histamin i huden orsakar mindre klåda hos patienter med AD jämfört med kontroller. (134) En eventuellt ökad lesional histaminkoncentration tillsammans med en minskad pruritogen effekt kunde tyda på ökad histaminsyntes (eller minskad histamin degradation) eller nedreglering av H₁R och H₄R på primära pruritogena C fibrerna. I en hundmodell för atopisk dermatit ökade histaminkoncentrationerna lokalt endast inom de första (1-3) timmarna efter allergenutmaning (135). Trots indicier om att histamin har en relevans i sjukdomsprocessen har H₁R-antagonister haft ofullständig effekt vid behandling av kroniska inflammatoriska hudsjukdomar. Således har det föreslagits att en del av histaminets effekter i huden kunde förmedlas via H₄R och att H₄R-modulation kunde vara nyttigt vid behandlingen.

Patofysiologin i AD är mångfacetterad och dels ofullständigt förstådd. Histopatologiskt karakteriseras sjukdomen av ökat antal eosinofiler och mastceller i vävnaden. I AD påträffas ofta en sensitisering till dietära- eller aeroallergen, och en stor del av patienterna påvisar ökat serum IgE. Graden av sensitisering (mängden IgE) återspeglar

ofta sjukdomssvårigheten, och behandling av AD med anti-IgE (t.ex. omalizumab) kan vara effektivt. (136) Så kallade inflammatoriska dendritiska epidermala celler (IDEC) förekommer karakteristiskt i atopiskt eksem i AD, och dessa försvinner efter lyckad behandling av lesionerna (98,137). Akuta faser av sjukdomsförloppet karakteriseras av en T_H2 -accentuerad immunrespons, medan T_H1 -miljö råder i kronisk AD (99). T_H2 -cytokinerna IL-4, IL-9 och IL-13 kan indirekt främja eosinofili via reglering av IL-5, som är en lokal kemoattraktant för eosinofiler, och eventuellt via nedreglering av IFN- γ (en T_H1 -cytokin) (138). Nyligen har tre polymorfismer (single nucleotide polymorphism) på HRH4 genen, som kodar H_4R receptorproteinet associerats med AD, vilket tyder på att receptorn kan ha en regulatorisk roll vid uppkomst av sjukdomen (139).

I AD kännetecknas dermala inflammatoriska infiltrat av eosinofili. Ökat antal eosinofiler och eosinofila katjoniska protein (ECP) förknippas såväl med akuta och kroniska faser i AD, och mätning av serum ECP kan användas för att evaluera sjukdomsaktivitet i allergisk och icke-allergisk AD. T_H2 -producerade cytokiner förknippas med sjukdomen, och speciellt IL-5 främjar eosinofilopoies, kemotaxis av eosinofiler, och eosinofilers överlevnad i vävnaden genom att hämma apoptos. Eosinofil-utsöndrade sekretkorn främjar inflammation och förvärrar sjukdomsförloppet i AD. (138)

H_4R på eosinofiler och MC kan förmedla cellernas kemotaxis. Således kan förhöjda lokala histaminkoncentrationer i huden vid inflammation orsaka förökning av mängden infiltrerade eosinofiler och MC. IDEC, som är patognomona vid AD, uttrycker en funktionell H_4R . T_H1 -relaterade cytokinen IFN- γ ökar expressionen av H_4R på IDEC, och således har H_4R sannolikt en roll vid T_H1 -relaterade immunresponser. Stimulering av H_4R (men inte modulering av de andra histaminreceptorerna) på IDEC leder till minskad utsöndring av T_H2 -associerade kemokinen CCL2 (en kemoattraktant för monocyter, aktiverade T-lymfocyter och NK-celler) och T_H1 -associerade cytokinen IL-12, vilket kunde vara en orsak till skiftet från akut T_H2 -medierad inflammation till kronisk T_H1 -medierad inflammation i AD. Histaminets hämmande verkan via H_4R på IDEC-producerat CCL2 kan vara en mekanism för att minska överproportionella immunresponser. Inhibering av både T_H1 - och T_H2 -relaterade kemokiner och cytokiner kan också återspegla en mera generell anti-inflammatorisk verkan via H_4R . (99)

Langerhans celler, som är en undergrupp av dendritiska celler i epidermis, tänktes länge primärt orsaka eskalation av immunresponser, såsom försenade, cellförmedlade allergiska hudexem. På grund av LC:s distribution i hudens yttersta lager kommer dessa celler i kontakt med främmande antigen. Internalisering av antigen via fagocytos, pinocytos och receptorförmedlad endocytos antas vara en fundamental uppgift för LC. Från epidermis till dermis migrerar omogna LC (kallas för "veiled cell") till lokala lymfkörtlar, aktiveras och presenterar antigenet (kallas för "interdigitating dendritic cell") för T-celler. LC kan ha pro-inflammatoriska eller immunosuppressiva/tolerogena funktioner, men ytterligare forskning krävs för att fullt kunna förstå de heterogena funktionerna som LC har. LC uttrycker H_4R , och stimulation av H_4R på LC orsakar deras migration och inhiberar CCL2-syntes. (70,140)

T-cellerna är immunologiska effektorceller vid inflammatoriska hudsjukdomar som t.ex. AD. Mogna T_H1 -, T_H2 - och T_H17 -celler förknippas med inflammation, och dessa cellpopulationer har påvisats uttrycka H_4R . $CD4^+$ T-celler uttrycker en funktionell H_4R , och receptorn uppregleras *in vitro* då cellerna odlas med T_H2 -cytokinen IL-4. (103) Stimulation av H_4R på $CD4^+$ T-celler ökar utsöndringen av IL-31, en T_H2 -cytokin som förknippas med uppkomsten av pruritus. En förklaring till pruritus i AD kan vara att histaminstimulerad ökning av IL-31 verkar vara effektivare hos patienter med AD jämfört med kontroller. (72)

Även andra hudsjukdomar än AD, såsom kronisk idiopatisk urtikaria, förknippas med ökning av antalet MC i vävnaden (35,141). På cellmembranen uttrycker MC receptorbundet IgE, som binder till främmande antigen (allergen) på cellytan. Aktivering av IgE-högaaffinitetsreceptor FcεRI-komplexet orsakar utsöndring av MC:s sekretkorn. Akuta allergiska tillstånd (t.ex. anafylaktiska reaktioner efter insektbett) orsakas av oändamålsenlig aktivering av FcεRI med påföljande våldsam utsöndring av sekretkorn från MC. Kliniska symptom vid akuta och kroniska allergiska tillstånd är ofta en återspeglning av ökade MC-aktiviteten. Hos patienter med AD kan en ökning av MC i huden och serum IgE påträffas i något skede av sjukdomen. I andra hudsjukdomar, såsom i kronisk idiopatisk urtikaria påträffas autoantikroppar för IgE-receptorerna, som direkt leder till ökad MC aktivitet (35). MC i huden uttrycker främst H_2R och H_4R (67).

H₄R i djurmodeller för atopiska hudsjukdomar

Flertalet forskningar som använt sig av djurmodeller för att undersöka H₄R:s effekt vid hudinflammationer har redan publicerats. I en studie med FITC-inducerad T_H2-driven inflammatorisk kontaktdermatit hos möss, verkade H₄R-antagonister anti-inflammatoriskt (142). Behandling med H₄R-antagonister före utsättning för allergen minskade symptom (mindre klåda och ödem) och mängden infiltrerade eosinofiler och MC i vävnaden. H₄R-antagonisternas anti-inflammatoriska verkan kunde ha förmedlats via H₄R på DC, med påföljande minskning av T_H2-polarisation. H₄R-antagonistbehandling minskade också migration av DC från huden till lokala lymfknutor *in vivo*. H₄R:s symptomlindrande effekt var oberoende av MC, vilket påvisades med MC-knock-out möss. Detta är logiskt, då redan låga histaminkoncentrationer räcker till för att aktivera H₄R.

Suwa och kolleger studerade kronisk kontaktdermatit i en modell där inflammation åstadkoms på möss genom upprepade utmaningar med haptenet TNCB (2,4,6-trinitro-1-chlorobenzene). H₄R-antagonister påbörjades efter sensitiseringen och användes under fortsatt TNCB behandling (143). H₄R-antagonister påvisade anti-inflammatorisk effekt och hämmade djurens behov att skrapa huden. H₄R-antagonism dämpade ökningen av serum IgE. Höga koncentrationer (30mg/kg) av neutrala H₄R-antagonisten JNJ7777120 minskade mängden infiltrerande mastceller och mängden mRNA för T_H2-cytokinen IL-4 i huden.

I motsats till föregående resultat kunde inte effekt med H₄R-antagonister påvisas i en hundmodell för akut AD, vilket eventuellt beror på att akuta inflammatoriska processer kanske inte är så H₄R-beroende som den rätt så långsamt pågående immunresponsen, som följer antigen-presentation (135). I experimentet, som utfördes på sex malteserbeaglar, visade sig H₄R-antagonism varken systemiskt eller topiskt administrerat ha effekt 24 timmar efter exponering för damkvalster. Likriktade resultat har rapporterats från en annan forskningsgrupp, som använde sig av en akut haptenducerad musmodell för att studera H₄R-antagonisters effekt vid behandling av akut kontaktdermatit (144). Även om akuta inflammatoriska reaktioner inte kunde motverkas med H₄R-antagonister, minskade H₄R-antagonisterna inflammation i hudlesionerna, då haptenet administrerades upprepade gånger. För att undersöka H₄R-medierade effekter *in vivo* användes H₄R-agonister lokalt på hudlesionerna. H₄R-agonisterna orsakade ett

inflöde av MC och eosinofiler i huden. Cytokinerna IL-4, IL-5 och IL-6 minskade, och IFN- γ och IL-12 ökade till följd av H₄R antagonism. Hos människan dominerar IL-4 produktion vid akut och IL-5 vid kronisk AD. T_H1-relaterade IFN- γ och IL-12 har rapporterats försämra AD-lesionerna, och således kunde H₄R-behandling även ha negativa effekter på sjukdomsprocessen. På grund av detta och andra orsaker förespråkar en nyligen publicerad studie användningen av duala H₁R/H₄R-antagonister vid allergiska hudsjukdomar (145). Forskningsgruppen jämförde kombinationsbehandling (H₄R-antagonisten JNJ7777120 och H₁R-antagonisten olopatadin) med någondera av antagonisterna skilt för sig eller ingen behandling alls. Kombinationsbehandling inhiberade effektivare eosinofilers infiltration i hudlesionerna än monoterapi med JNJ7777120. Mängden infiltrerade MC i hudlesionerna minskade till följd av H₄R-antagonism, men kombinationsbehandling ökade inte effekten. IL-4, IL-5 och IL-6 minskade i huden med JNJ7777120, medan IL-12 och IFN- γ ökade. Ökningen av IL-12 och IFN- γ kunde inhiberas med kombinationsbehandling. Då T_H1-medierade cytokinerna IL-12 och IFN- γ kan försämra sjukdomsförloppet i AD, kunde dual antagonism på H₁R och H₄R ha ökad gynnsam effekt jämfört med monoterapi med en H₄R-antagonist. Kombinationsbehandling minskade serum IgE effektivare än monoterapi med H₁R eller H₄R. Det är därför intressant att IgE-förmedlade överkänslighetsreaktioner anses ha en tidig urtikaria-liknande fas 15-30 minuter efter exponeringen, som åtföljs av en sen fas efter 6-24 timmar som karakteriseras av eosinofil- och CD4⁺ T-lymfocytinfiltrat. Den sena fasen anses likna astma och AD.

Ohsawa och kolleger undersökte pikrylklorid-inducerad musmodell för kronisk kontaktdermatit. Likt Matshushitas forskningsgrupp, användes en kombination av JNJ7777120 (30mg/kg) och olopatadin (3mg/kg). Kombinationsbehandlingen jämfördes med olopatadin, JNJ7777120 och peroral prednisolon (3mg/kg). Skrapning lindrades effektivare med kombinationsbehandlingen än med monoterapi med JNJ7777120, och effekten var jämförbar med prednisolon. Hudlesionerna evaluerades kliniskt ("hudindex"), och förbättringen med kombinationsbehandlingen var jämförbar med effekten av prednisolon. Likväl hämmade kombinationsbehandlingen ökning av serum IgE och inflammatoriska cytokinerna IL-4 och IL-5 i huden. Återigen var effekten med kombinationsbehandlingen jämförbar med prednisolonbehandlingen. Således kunde kombinatorisk behandling med duala H₁R/H₄R-antagonister i framtiden vara ett

effektivt alternativ för kortisonbehandling vid behandlingen av symptom och inflammation i t.ex. AD. (146)

Rosbach *et al.* kunde inte påvisa anti-inflammatorisk effekt med JNJ7777120 i två musmodeller för allergisk dermatit (TDI (T_H2) och DNCB (T_H1)), men däremot hade H_1R - och H_4R -antagonisterna anti-pruritogen effekt. Kombinationsbehandling med både H_1R - och H_4R -antagonister lindrade effektivare klåda än H_1R - eller H_4R -antagonisterna enskilt (147). Detta är överensstämmande med tidigare studier (121). I en studie hade H_4R -antagonister effekt vid H_1R -resistent pruritus (133).

Dunford och kollegers noggranna iakttagelser fick forskningsgruppen att föreslå, att histaminets pruritogena effekt förmedlas via direkt aktivering av H_4R på sensoriska nervändor (121). Numera har en studie som tacklade frågan om histaminreceptorernas distribution på pruritogena perifera sensoriska nervändor publicerats (85). Med hjälp av retrograd stämpling av hudinnerverande sensoriska neuroner påvisades att H_1R , H_3R och H_4R uttrycks på primära sensoriska neuroner hos möss. Genom att mäta kalciumkoncentrationen i enstaka isolerade hudspecifika DRG-neuroner påvisades att receptorerna är funktionellt aktiva. Stimulering av H_1R och H_4R , och inhibering av H_3R , orsakade ökning av intracellulärt kalcium i neuronerna. Hos provdjuren orsakade H_3R inversa agonisten pitolisant dosrelaterat klåda och effekten kunde blockeras totalt med simultan antagonism av H_1R och H_4R . Således postulerade forskningsgruppen, att histaminorsakad klåda sannolikt kan uppstå via invers agonism på H_3R som orsakar ett sänkt excitatoriskt tröskelvärde i primära sensoriska neuronerna, vilket aktiverar H_1R och H_4R .

H_3R :s betydelse för uppkomsten av pruritogena signaler har varit spekulativ, men Rosbachs och kollegers studier är ett starkt bevis för att även H_3R deltar i perifera moduleringen av pruritogena signaler (85), och retrospektiv analys av litteraturen är överensstämmande med fynden (131,148). I en av de första studierna som påvisade att histaminets pruritogena effekt förmedlas via H_1R och H_4R , användes ligander som har affinitet för både H_3R och H_4R pga. att specifika ligander för H_4R inte fanns till förfogande (130). Bland annat användes klobenpropit (H_3R -antagonist/ H_4R -agonist) och imetit (H_3R / H_4R -agonist) för att evaluera histaminets receptorverkan vid uppkomsten av klåda. Imetit visade sig vara en mindre potent orsak av klåda än klobenpropit, vilket sannolikt beror på att imetit är en även mer potent agonist på H_3R .

än H₄R, och effekterna jämnas ut. Däremot verkar tioperamid synergistiskt genom att antagonisera H₃R och agonisera H₄R, och verkade således som en effektivare pruritogen i studien. I en annan studie orsakade klobenpropit pruritus i både BALB/c och NMRI möss (149).

Histaminreceptorer och autoimmuna sjukdomar

Till autoimmuna sjukdomar hör en stor grupp av olika sjukdomar, vilka kan kliniskt verka sinsemellan väldigt olika. Gemensamt med autoimmuna sjukdomar är att den oändamålsenliga aktiveringen av immunsystemet mot autoantigen. En del av människor har genetisk benägenhet att utveckla autoimmuna sjukdomar. Under fostertiden och i barndomen sållar och skolar tymus utvecklande tymocyter till T-celler. I samma process sållas autoreaktiva och dåligt reaktiva T-celler bort, men misslyckandet i detta kan leda till uppkomsten av autoreaktiva T-celler, vilka reagerar mot egna vävnader och vilket tar uttryck som autoimmuna sjukdomar. Utöver detta kan autoimmunitet utvecklas pga. yttre omständigheter, t.ex. till följd av interaktioner mellan immunsystemet och bakterier/virus. Mekanismerna bakomliggande autoimmunitet till följd av yttre omständigheter är dåligt kända. Det tänks, att patogenernas struktur kan i tillräcklig grad likna egna vävnaders struktur, och att immunsystemet således inte känner igen dessa från varandra, och följaktligen reagerar mot egen vävnad. Då brister den så kallade perifera toleransen, som baserar sig på bl.a. på T-lymfocyternas anergi mot antigenet, antigen-inducerad apoptos eller utveckling till T_{REG} celler, som aktivt motverkar utvecklingen av immunreaktioner mot antigenet.

Ökning i antalet MC och koncentrationen av histamin i serum och vävnader associeras till flertalet autoimmuna sjukdomar. Dessa omständigheter förespråkar en roll för mastceller och histaminreceptorerna i autoimmuna processer. I och med att H₁R- och H₂R-antagonister inte har visat sig vara effektiva vid behandlingen av autoimmuna sjukdomar, har en roll för den senast identifierade histaminreceptorn H₄R vid autoimmuna sjukdomar förslagits, då receptorn uttrycks främst på immunologiska celler. H₄R-antagonister har påvisat effekt vid flertalet allergiska och autoimmuna processer i provdjursstudier.

Reumatoid artrit

Reumatoid artrit (RA) är en inflammatorisk sjukdom med mångfacetterad patofysiologi. Genetiska och miljöbetingade faktorer spelar stor roll och sjukdomen klassificeras som en autoimmun sjukdom. Ökning av reumafaktor och antikroppar mot citrullinerade proteiner (ACPA) påträffas i sjukdomen. Sjukdomen drabbar symmetriskt lederna, och karakteristiskt för RA är en symmetrisk polyartrit, som börjar i händernas och tårnas små leder. Inflammation av ledkapseln orsakar förstörelse av broskvävnad och leddeformitet. Trots att RA har studerats intensivt är det oklart varför särskilt lederna drabbas i sjukdomen. $CD4^+$ T-celler, B-celler och makrofager som infiltrerar ledkapseln, och cellernas utsöndringsprodukter, främst cytokiner och matrix metalloproteinaser (MMP), förknippas till patofysiologin i RA (150,151). Till följd av en pågående ledhinneinflammation (synovit) sker hyperplasi av fibroblast-lik typ B synoviocyter och makrofag-lik typ A synoviocyter i ledhinnan. Mastcellernas roll i patogenesen är oklar, men antalet MC är ökat i sjukdomen, och ökad MC-aktivitet och -degranulation har påvisats i RA i de delarna av leder där det sker förstörelse av ledbrosk (151). Inhibition av c-kit tyrosinkinase, som är kännetecknande för MC, kan minska sjukdomsaktiviteten (152). Trots dessa indicier är mastcellens exakta roll i sjukdomsprocessen oklar. Neutrofilers kontribution är oklar, men cellerna kan utsöndra flera RA-associerade cytokiner (TNF, IL-1, IL-5, IL-6, IL-17B, IL-18, BAFF), och prostaglandiner och reaktiva syreradikaler, vilka kan orsaka förstörelse av brosk och medverka i uppkomsten av den generellt hypoxiska miljön som observeras i RA (151,153,154).

Histaminets roll vid RA är kontroversiellt, och det pågår en debatt om huruvida histaminet verkar pro- eller anti-inflammatoriskt i sjukdomen. Enstaka studier har kunnat påvisa förhöjda histaminkoncentrationer i serum och/eller ledvätska (SF) (155). Å andra sidan har en studie nyligen påvisat det motsatta, då patienter med RA hade lägre histaminkoncentrationen både i serum och SF jämfört med normala kontroller (151). Till följd av anti-IL-6 behandling förhöjdes koncentrationen av histamin i serum, och ökningen av serum histamin korrelerade med förbättring av DAS sjukdomsaktivitetsindexet (sjukdomssymptom).

Det är inte alldeles klart varför olika forskningar har fått sinsemellan kontroversiella resultat angående koncentrationen av histamin i serum och SF. En orsak är att

metoderna som har använts varierar gällande sensitiviteten, och alla metoder kan inte tillämpas på olika kroppsvätskor fastän de skulle fungera bra med rena standarder utspädda i buffertlösningar. En annan orsak är att histaminkoncentrationer kan stiga till höga värden bara väldigt temporärt och lokalt. En förklaring till detta kan vara burst release, kombinerat med cellernas effektiva mekanismer för histaminmetabolism, som möjliggör snabb utjämning av lokalt uppkomna höga koncentrationer, bl.a. genom passiv internalisering via OCT2/3-kanalerna. En tredje orsak kan vara att metoderna inte är optimala för mätningen av låga, "icke-professionella" histaminkoncentrationer. Då H_4R pga. sin naturligt höga affinitet för histamin påverkas av minuskula (nanomolära) koncentrationer av histamin, försvåras uppmätning av skillnader i vävnadskoncentrationer ytterligare, eftersom koncentrationerna och patologiska skillnader mellan kontroller och patienter kan vara mycket låga och svåra att upptäcka. En fjärde orsak är den konstitutiva histaminreceptoraktiviteten, som också borde tas med i kalkylerna, om man är intresserad av histamineffekten och inte enbart histaminkoncentrationen, som bara utgör en del av helheten. Dessutom kan receptor-histaminkomplexet internaliseras (56,63-65), vilket följaktligen skulle minska mängden histamin t.ex. i SF, och försvårar tolkningen av forskningsresultat ytterligare, då kvantifiering av receptorer (och förändringar i mängden) på cellernas yta och andra histaminbindande (t.ex. cytokrom P450, histamintransportörer) och upplagrande strukturer (t.ex. återupptagning i sekretkorn) borde beaktas i resultaten angående histaminkoncentrationer i vävnader och t.ex. SF.

På grund av det effektiva histaminomsättningsmaskineriet är det osannolikt att höga koncentrationer av histamin skulle vara långa tider i vävnad eller t.ex. blodcirkulationen. Resultaten från en atopisk hundmodell är beskrivande för den effektiva utjämningen av histaminkoncentrationer (135). Då lokala histaminkoncentrationer i huden, som utsattes för ett allergen uppmättes, resulterade detta i ökning av histaminkoncentration endast inom påföljande 1-3 timmar efter utsättningen, och dessutom var den uppmätta ökningen av histaminkoncentrationen endast nanomolär. Således är det kanske inte realistiskt att förvänta resultat, som direkt skulle påvisa förhöjda koncentrationer av histamin i människan vid RA, då en eventuell förhöjning av koncentrationen sannolikt skulle antingen äga rum endast under en väldigt kort tid, eller enbart långsamt variera under en längre tid på en låg nivå. Påvisning av skillnader i receptorexpression och evaluering av (farmakologiska och genetiska)

receptormodulatoriska effekter i djurmodeller är sannolikt ett värdefullare sätt att försöka förstå den komplicerade receptorfarmakologin av histaminreceptorer och implementera dessa kunskaper i sjukdomar som drabbar människan.

De flesta av immunförsvarets celler uttrycker H_4R , vilket redan har diskuterats intensivt i denna text, och således kan immunomodulation via H_4R vara potentiellt gynnsamt även i RA. Expression av H_1R , H_2R och H_4R har också påvisats på fibroblast-lik typ B synoviocyter och makrofag-lik typ A synoviocyter hos patienter med RA och friska kontroller (77). Expression av H_1R och H_4R i ledvävnad minskar i RA jämfört med osteoartrit (artros), vilket talar för en uppehållande roll för H_4R i fysiologiska tillstånd, såsom i åldrande leder, och/eller en eventuell förändrad förekomst och aktivitet av receptorn vid uppkomsten av kroniska inflammatoriska sjukdomar som drabbar leder (19). Det är ju också möjligt att H_4R deltar i bevarandet av normal vävnadshomeostas och fungerar kanske inte så effektivt i en redan pågående inflammation i dämpande eller accelererande riktning.

I Yamauras och kollegers studie påvisades att serum MMP-3 (en markör för ledinflammation) korrelerar negativt med expression av H_4R i ledvävnad (och serum CRP). MMP-3, som utsöndras från fibroblast-lik synoviocyter och kondrocyter, orsakar destruktion av ben- och broskvävnad i RA. (19) Direkta bevis på att H_1R och H_4R verkar pro- eller anti-inflammatoriskt har inte publicerats, och i en musmodell för artrit verkade resultaten vara relativt inkonsekventa (156). Med tanke på att H_1R och H_4R verkar anti-inflammatoriskt i flera djurmodeller för allergiska sjukdomar, är det frestande att hypotetisera, att receptorerna modulerar inflammation även i RA. I så fall kunde nedreglering av receptorerna vara en påföljd av ökad stimulering till följd av intra-artikulär inflammation. Histamin (via H_1R och H_4R) ökar fibroblast-lik synoviocyters utsöndring av pro-inflammatoriska cytokinerna IL-6 och IL-8 (77).

Histamin orsakar kemotaxis av MC, och MC har sannolikt en roll i effektor-fasen av RA (151). H_4R påverkar DC kemotaxis, och sannolikt migration av DC till lokala lymfknutor (157). Flera studier har påvisat immunomodulatoriska effekter via H_4R , och det har även föreslagits att H_4R -antagonism kunde ha en generell inhibitorisk verkan på cytokinutsöndring och T_H -polarisering (99). H_4R -expressionsregleringen är förändrad i RA, vilket eventuellt kunde bero på ökad histaminkoncentration lokalt, och en påföljande nedreglering av receptorn. I och med att H_4R har påvisats ha anti-

inflammatoriska egenskaper i autoimmuna sjukdomstillstånd *in vivo* och *in vitro*, kunde H₄R-modulation vara en ny strategi vid behandling av RA.

SLE

I en studie har variationen av antalet av budbärar-RNA molekylerna av HRH4 genen associerats med ökad svårighetsgrad av SLE. Således fanns det ett ökat antal av HRH4 mRNA molekyler hos patienter med SLE, och amplifikation av genen kopplades också till en ökning i incidensen av artrit, proteinuri och kärnantikroppar i SLE. Således kunde H₄R spela en roll för patogenesen av SLE, och genamplifikationen verkar öka vid led- och njurskada och vid ökad systemisk sjukdomsaktivitet (158). Det blir dock oklart om ett ökat antal av HRH4 budbärar-RNA molekylerna bidrar till ökad sjukdomsaktivitet eller om det tvärtom gäller ett kompensatoriskt fenomen, som försöker dämpa den aktivt pågående autoimmuna inflammationen.

Sjögrens syndrom

Det mest karakteristiska symptomet för Sjögrens syndrom (SS) är keratokonjunktivitis sicca och xerostomi, som förekommer tillsammans med lymfocytinfiltrat i tår- och spottkörtlar och SS-autoantikroppar. 90 % av patienter med SS är kvinnor. Histologiskt karakteriseras sjukdomen av fokal sialadenit, vilket även är viktigt vid diagnostisering av sjukdomen. Cirkulerande antikroppar (SS-A/La, SS-B/Ro) associeras med sjukdomen, men sjukdomen kan även förekomma utan höjning av dessa antikroppar. Det har faktiskt påvisats att HLA-bakgrunden vid Sjögrens syndrom associerar sig till förmågan att producera SS-A och SS-B autoantikroppar, inte till syndromet *per se*. Den patofysiologiska och diagnostiska betydelsen av andra autoantikroppar, mot t.ex. M3 muskarinreceptorer och α -fodrin, är inte helt klarlagd. Sjögrens syndrom är en systemisk sjukdom, som kan manifesteras i många organ hos människan, och kan förekomma sekundärt till andra autoimmuna sjukdomar.

En positiv korrelation mellan mastceller rika med sekretkorn som innehåller histamin och lokal inflammation i form av antalet av fokala lymfocytinfiltrat i spottkörtelvävnad i SS har kunnat påvisas (159). Nyligen har H₄R påvisats på acinära och duktala

epitelceller i labiala spottkörtlar hos både friska kontroller och patienter med SS (18). Mängden av H₄R visade sig dock vara signifikant mindre hos SS-patienter, vilket kunde bero på nedreglering av receptorerna på cellytan till följd av överdriven och kanske mastcellförmidd histaminstimulering av de histaminkänsliga H₄R:erna. *In vitro* stimulering av spottkörtelceller (HSG) med H₄R-agonisten ST-1006 ökade signifikant utsöndringen av IL-8 och VEGF, vilket påvisar att H₄R:n vid spottkörtlarnas epitelceller förekommer i funktionellt aktiv form; dessutom kan sådana här fenomen också ha patogenetisk betydelse vid Sjögrens syndrom.

5. Framtidsvisioner

Histamin, som har producerats, upplagrats och sedan plötsligt frigjorts från professionella histaminproducerande celler, såsom mastceller, basofiler, ECL-celler och histaminergiska neuroner har länge varit känt. Histaminets effekter ansågs tidigare vara helt beroende på H₁R och H₂R. Antihistaminer och H₂R-blockerare är små kemiska molekyler, vars användning som läkemedel blev en jättesuccé. Antihistaminer håller på att sälja bra, men upptäckten av protonpumphämmare och insikt i betydelsen av *H. pylori* vid ulkussjukdom har minskat betydelsen av H₂R-hämmare. På grund av den praktiska inställningen på kroppsfenomen inom medicin och strävan till att kunna påverka olika sjukdomar med läkemedel, och indirekta indicier för en mycket mera utbredd funktion av histamin till trots, så kom man inte längre än detta på 20:e århundradet.

Histamin i professionella histaminproducerande celler syntetiseras av 54 kD HDC av substratet L-histidine. Man hade nog konstaterat att det finns en annan form av enzymet, 73 kD HDC, men pga. att dess syntetiska hastighet var 100-1000 gånger lägre så ansåg man att 73 kD HDC representerar ett pro-enzym, som börjar fungera ordentligt först efter en proteolytisk aktivering. Så småningom blev det dock klart att 73 kD HDC har

en egen histaminproducerande aktivitet, som uttrycks bl.a. i dendritceller och lymfocyter. I brist på effekter av så låga histaminkoncentrationer på de då kända H_1R och H_2R ansåg man denna icke-professionella histaminsyntes vara någon sorts evolutionär anomali eller kvarleva. Men som så ofta tidigare visade det sig att de låga, icke-professionella histaminkoncentrationerna hade ett alldeles eget spelfält: de kunde stimulera nyupptäckta histaminreceptorer med 10,000 gånger högre affinitet än de konventionella H_1R och H_2R har. Dessa nya histaminreceptorer, H_3R och H_4R , kan effektivt stimuleras av de låga, icke-professionella histaminkoncentrationerna.

Det intressanta är att H_3R hittas företrädesvis i det centrala nervsystemet, där den reglerar utsöndring av neurotransmittorer. Man anser därför att denna auto- och heteroreceptor påverkar särskilt kognitiva funktioner hos friska och medverkar vid olika neurologiska sjukdomar, t.ex. dementier. På samma sätt är det också intressant att H_4R förekommer i myelopoietiska celler som också kan uppfattas som inflammatoriska och immunokompetenta celler. Detta anses igen ha konsekvenser för immunreaktioner och olika autoinflammatoriska och autoimmuna sjukdomar. Dyra biologiska läkemedel finns för tillfället i användning för många av dessa neurologiska och autoimmuna sjukdomar. Därför är förväntningar uppskruvade gällande möjligheter att medicinera dessa och även andra likadana sjukdomar med små kemiska molekyler, som skulle kunna administreras peroralt eller lokalt. Kanske också de kommersiella och medicinska framgångarna med antihistaminer och H_2R -blockerare har bidragit till dessa förväntningar.

Upptäckten av icke-professionella histaminproducerande celler och nya H_3R/H_4R med hög affinitet gör att nästan alla gamla experimentella och kliniska studier måste granskas på nytt. Det blir särskilt utmanande att studera hur höghistamin och låghistamin systemen kommunicerar med varandra, särskilt pga. att cellulära histaminkällor med hög och låg kapacitet, och potentiella målceller med mycket olika stimuleringströskelvärden förekommer sida vid sida i olika vävnader. Hur påverkas olika strukturella och immigranta celler av låga histaminnivåer? Hur påverkas de då när histaminkoncentrationerna mera än väl räcker att saturera dem till 100 % under längre tider efter ett massivt histaminutsläpp från mastcellerna? Det är nästan säkert att dessa två histaminkoncentration- och histaminreceptorberoende system står i dubbelriktad kommunikation med varandra fastän man för tillfället förstår väldigt lite av dessa interaktioner.

Histaminreceptorer visar ovanliga drag också med sin konstitutiva aktivitet, dvs. partiell aktivering av receptorer även utan ligander. På något sätt måste dessa konstitutiva, basala receptoraktiviteter och deras inbördes balans också regleras av histaminkoncentrationen, antingen av den icke-professionella nanomolära eller professionella mikromolära. Processerna kompliceras ytterligare av receptordesensitisering och även internalisering, som kan leda till receptorernas recirkulering eller degradering. Det är också en öppen fråga om en internaliserad receptor kan fortsätta med att aktivera en eller flera signaltransduktionskaskader intracellulärt. Dessutom har man kunnat påvisa histamin i cellkärnor utan att kunna ange någon funktion för detta.

Det är klart att färska fynd och lovande vyer i spjutspetsforskningen leder till en renässans i forskningen av histamin och histaminreceptorer.

Referenser

- (1) Dale H, Laidlaw P. The physiological action of beta-iminazolyethylamine. *J Physiol* 1910 Dec 31;41(5):318-344.
- (2) Maintz L, Novak N. Histamine and histamine intolerance. *Am J Clin Nutr* 2007 May;85(5):1185-96.
- (3) Simons F. Is antihistamine (H1-receptor antagonist) therapy useful in clinical asthma? *Clin Exp Allergy* 1999 Jul;29(Supplement 3):98-104.
- (4) Haas H, Sergeeva O, Selbach O. Histamine in the nervous system. *Physiol Rev* 2008 Jul;88(3):1183-241.
- (5) Huang J, Thurmond R. The new biology of histamine receptors. *Curr Allergy Asthma Rep* 2008 Mar;8(1):21-7.
- (6) Dy M, Schneider E. Histamine–cytokine connection in immunity and hematopoiesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004 Oct;15(5):393-410.
- (7) Paesen G, Adams P, Harlos K, Nuttall P, Stuart D. Tick histamine-binding proteins: isolation, cloning, and three-dimensional structure. *Mol Cell* 1999 May;3(5):661-71.
- (8) Milligan G, Bond R, Lee M. Inverse agonism: pharmacological curiosity or potential therapeutic strategy? *Trends Pharmacol Sci* 1995 Jan;16(1):10-3.
- (9) Leff P. The two-state model of receptor activation. *Trends Pharmacol Sci* 1995 Mar;16(3):89-97.
- (10) Bakker R, Wieland K, Timmerman H, Leurs R. Constitutive activity of the histamine H receptor reveals inverse agonism of histamine H receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 2000 Jan;387(1):R5-R7.
- (11) Smit M, Leurs R, Alewijnse A, Blauw J, Van Nieuw Amerongen G, Van De Vrede Y, et al. Inverse agonism of histamine H2 antagonists accounts for upregulation of spontaneously active histamine H2 receptors. *Pharmacology* 1996 Jun 25;93(13):6802-7.
- (12) Morisset S, Rouleau A, Ligneau X, Gbhaou F, Tardivel-Lacombe J, Stark H, et al. High constitutive activity of native H3 receptors regulates histamine neurons in brain. *Nature* 2000 Dec 14;408(6814):860-4.
- (13) Oda T, Morikawa N, Saito Y, Masuho Y, Matsumoto S. Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes. *J Biol Chem* 2000 Nov 24;275(47):36781-6.

- (14) Jutel M, Akdis M, Akdis C. Histamine, histamine receptors and their role in immune pathology. *Clin Exp Allergy* 2009 Dec;39(12):1786-1800.
- (15) Benarroch E. Histamine in the CNS: multiple functions and potential neurologic implications. *Neurology* 2010 Oct 19;75(16):1472-9.
- (16) Moldofsky H. Fibromyalgia, Sleep Disorder and Chronic Fatigue Syndrome. In: Bock GW, J., editor. *CIBA FOUNDATION SYMPOSIA CHICHESTER*; CHICHESTER: JOHN WILEY & SONS LTD; 1993. p. 262-279.
- (17) Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Histamine and histamine receptors in pathogenesis and treatment of multiple sclerosis. *Neuropharmacol* 2010 Sep;59(3):180-9.
- (18) Stegaev V, Sillat T, Porola P, Hänninen A, Falus A, Mieliauskaite D, et al. First identification of H4 histamine receptor in healthy salivary glands and in focal sialadenitis in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2012 Aug;64(8):2663-8.
- (19) Yamaura K, Oda M, Suzuki M, Ueno K. Lower expression of histamine H4 receptor in synovial tissues from patients with rheumatoid arthritis compared to those with osteoarthritis. *Rheumatol Int* 2012 Oct;32(10):3309-13.
- (20) Smuda C, Bryce P. New developments in the use of histamine and histamine receptors. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011 Apr;11(2):94-100.
- (21) Tanaka S, Ichikawa A. Regulation of mammalian histamine synthesis: histidine decarboxylase. In: Shahid M, Khardori N, Khan RA, Tripathi T, editors. *Biomedical Aspects of Histamine*. 1st ed.: Springer; 2011. p. 15-30.
- (22) Duan H, Wang J. Selective transport of monoamine neurotransmitters by human plasma membrane monoamine transporter and organic cation transporter 3. *J Pharmacol Exp Ther* 2010 Dec;335(3):743-53.
- (23) Stegaev V. unpublished material.
- (24) Kubo Y, Nakano K. Regulation of histamine synthesis in mouse CD4+ and CD8+ T lymphocytes. *Inflamm Res* 1999 Mar;48(3):149-53.
- (25) Szeberényi J, Pállinger É, Zsinkó M, Pós Z, Rothe G, Orsó E, et al. Inhibition of effects of endogenously synthesized histamine disturbs in vitro human dendritic cell differentiation. *Immunol Lett* 2001 Apr 2;76(3):175-82.
- (26) Nijima-Yaoita F, Tsuchiya M, Ohtsu H, Yanai K, Sugawara S, Endo Y, et al. Roles of Histamine in Exercise-Induced Fatigue: Favouring Endurance and Protecting against Exhaustion. *Biol Pharm Bull* 2012 Jan;35(1):91-7.
- (27) Lim H, van Rijn R, Ling P, Bakker R, Thurmond R, Leurs R. Evaluation of histamine H1-, H2-, and H3-receptor ligands at the human histamine H4 receptor: Identification of 4- methylhistamine as the first potent and selective H4 receptor agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 2005 Sep;314(3):1310-21.

- (28) Clark R, Gallin J, Kaplan A. The selective eosinophil chemotactic activity of histamine. *J Exp Med* 1975 Dec 1;142(6):1462-76.
- (29) Buckland K, Williams T, Conroy D. Histamine induces cytoskeletal changes in human eosinophils via the H4 receptor. *Br J Pharmacol* 2003 Nov;140(6):1117-27.
- (30) Ling P, Ngo K, Nguyen S, Thurmond R, Edward J, Karlsson L, et al. Histamine H4 receptor mediates eosinophil chemotaxis with cell shape change and adhesion molecule upregulation. *Br J Pharmacol* 2004 May;142(1):161-71.
- (31) Barnard R, Barnard A, Salmon G, Liu W, Sreckovic S. Histamine-Induced actin polymerization in human eosinophils: an imaging approach for histamine H4 receptor. *Cytometry A* 2008 Apr;73(4):299-304.
- (32) Ichikawa A, Sugimoto Y. Molecular biology of histidine decarboxylase and prostaglandin receptors. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2010 Oct;86(8):848-866.
- (33) Ash A, Schild H. Receptors mediating some actions of histamine. *Br J Pharmac Chemother* 1966;27(2):427-39.
- (34) de Backer M, Loonen I, Verhasselt P, Neefs J, Luyten W. Structure of the human histamine H1 receptor gene. *J Biochem* 1998 Nov 1;335:663-70.
- (35) Thurmond R, Gelfand E, Dunford P. The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nat Rev Drug Discov* 2008 Jan;7(1):41-53.
- (36) Leurs R, Church M, Taglialatela M. H1-antihistamines: inverse agonism, anti-inflammatory actions and cardiac effects. *Clin Exp Allergy* 2002 Apr;32(4):489-98.
- (37) Feng Z, Hou T, Li Y. Docking and MD study of histamine H4R based on the crystal structure of H1R. *J Mol Graph Model* 2013 Feb;39:1-12.
- (38) Akdis C, Blaser K. Histamine in immune regulation of allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2003 Jul;112(1):15-22.
- (39) Simons E. Drug therapy - Advances in H1-antihistamines. *N Engl J Med* 2004 Nov 18;351(21):2203-17.
- (40) Traiffort E, Vizuete M, Tardivel-Lacombe J, Souil E, Schwartz J, Ruat M. The guinea pig histamine H2 receptor: Gene cloning, tissue expression and chromosomal localization of its human counterpart. *Biochem Biophys Res Commun* 1995 Jun 15;211(2):570-7.
- (41) Gutzmer R, Diestel C, Mommert S, Köther B, Stark H, Wittmann M, et al. Histamine H4 receptor stimulation suppresses IL-12p70 production and mediates chemotaxis in human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2005 May 1;174(9):5224-32.

- (42) Lovenberg T, Roland B, Wilson S, Jiang X, Pyati J, Huvar A, et al. Cloning and functional expression of the human histamine H3 receptor. *Mol Pharmacol* 1999 Jun;55(6):1101-7.
- (43) Tardivel-Lacombe J, Morriset S, Gbhaou F, Schwartz J, Arrang J. Chromosomal mapping and organization of the human histamine H3 receptor gene. *Mol Neurosci* 2001 Feb 12;12(2):321-4.
- (44) Cogé F, Guénin S, Audinot V, Renouard-Try A, Beauverger P, Macia C, et al. Genomic organization and characterization of splice variants of the human histamine H3 receptor. *J Biochem* 2001 Apr 15;355(Pt 2):279-88.
- (45) Wellendorph P, Goodman M, Burstein E, Nash N, Brann M, Weiner D. Molecular cloning and pharmacology of functionally distinct isoforms of the human histamine H3 receptor. *Neuropharmacol* 2002 Jun;42(7):929-40.
- (46) Wiedemann P, Bönisch H, Oerters F, Brüß M. Structure of the human histamine H3 receptor gene (HRH3) and identification of naturally occurring variations. *J Neural Transm* 2002 Apr;109(4):443-53.
- (47) Hancock A, Esbenshade T, Krueger K, Bei Yao B. Genetic and pharmacological aspects of histamine H3 receptor heterogeneity. *Life Sci* 2003 Oct 31;73(24):3043-72.
- (48) Bakker R. Histamine H3-receptor isoforms. *Inflamm Res* 2004 Oct;53(10):509-16.
- (49) Leurs R, Bakker R, Timmerman H, de Esch I. The histamine H3 receptor: from gene cloning to H3 receptor drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005 Feb;4(2):107-20.
- (50) Passani M, Blandina P. Histamine receptors in the CNS as targets for therapeutic intervention. *Trends Pharmacol Sci* 2011 Apr;32(4):242-9.
- (51) Ihler F, Bertlich M, Sharaf K, Strieth S, Strupp M, Canis M. Betahistidine exerts a dose-dependent effect on cochlear stria vascularis blood flow in guinea pigs in vivo. *PLoS ONE* 2012 Jun 20;7(6):e39086.
- (52) Desmadryl G, Gaboyard-Niay S, Brugeaud A, Travo C, Broussy A, Saleur A, et al. Histamine H4 receptor antagonists as potent modulators of mammalian vestibular primary neuron excitability. *Br J Pharmacol* 2012 Oct;167(4):905-16.
- (53) Nakamura T, Itadani H, Hidaka Y, Ohta M, Tanaka K. Molecular cloning and characterization of a new human histamine receptor, HH4R. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 Dec 20;279(2):615-20.
- (54) Morse K, Behan J, Laz T, West R, Greenfeder S, Anthes J, et al. Cloning and characterization of a novel human histamine receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2001 Mar;296(3):1058-66.
- (55) Liu C, Ma X, Jiang X, Wilson S, Hofstra C, Blevitt J, et al. Cloning and pharmacological characterization of a fourth histamine receptor (H4) expressed in bone marrow. *Mol Pharmacol* 2001 Mar;59(3):420-6.

- (56) Nguyen T, Shapiro D, George S, Setola V, Lee D, Cheng R, et al. Discovery of a novel member of the histamine receptor family. *Mol Pharmacol* 2001 Mar;59(3):427-33.
- (57) Zhu Y, Michalovich D, Wu H, Tan K, Dytko G, Mannan I, et al. Cloning, expression and pharmacological characterization of a novel human histamine receptor. *Mol Pharmacol* 2001 Mar;59(3):434-41.
- (58) van Rijn R, van Marle A, Chazot P, Langemeijer E, Qin Y, Shenton F, et al. Cloning and characterization of dominant negative splice variants of the human histamine H4 receptor. *J Biochem* 2008 Aug 15;144(1):121-31.
- (59) Gantner F, Sakai K, Tusche M, Cruikshank W, Center D, Bacon K. Histamine H4 and H2 receptors control histamine-induced interleukin-16 release from human CD8+ T cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2002 Oct;303(1):300-7.
- (60) Cogé F, Guénin S, Rique H, Boutin J, Galizzi J. Structure and expression of the human histamine H4-receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 Jun 8;284(2):301-9.
- (61) Jablonowski J, Grice C, Chai W, Dvorak C, Venable J, Kwok A, et al. The first potent and selective non-imidazole human histamine H4 receptor antagonists. *J Med Chem* 2003 Sep 11;46(19):3957-60.
- (62) Akdis C, Simons E. Histamine receptors are hot in immunopharmacology. *Eur J Pharmacol* 2006 Mar 8;533(1-3):69-76.
- (63) Xu A, Kuramasu A, Maeda K, Kinoshita K, Takayanagi S, Fukushima Y, et al. Agonist-induced internalization of histamine H2 receptor and activation of extracellular signal-regulated kinases are dynamin-dependent. *J Neurochem* 2008 Oct;107(1):208-17.
- (64) Hishinuma S, Komazaki H, Fukui H, Shoji M. Ubiquitin/proteasome-dependent down-regulation following clathrin-mediated internalization of histamine H1-receptors in Chinese hamster ovary cells. *J Neurochem* 2010 May;113(4):990-1001.
- (65) Shi Y, Sheng R, Zhong T, Xu Y, Chen X, Yang D, et al. Identification and characterization of ZEL-H16 as a novel agonist of the histamine H3 receptor. *PLoS ONE* 2012 Aug 1;7(8):e42185.
- (66) Hofstra C, Desai P, Thurmond R, Fung-Leung W. Histamine H4 receptor mediates chemotaxis and calcium mobilization of mast cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2003 Jun;305(3):1212-21.
- (67) Lippert U, Artuc M, Grützkau A, Babina M, Guhl S, Haase I, et al. Human skin mast cells express H2 and H4, but not H3 receptors. *J Invest Dermatol* 2004 Jul;123(1):116-23.
- (68) Damaj B, Becerra C, Esber H, Wen Y, Maghazachi A. Functional expression of H4 histamine receptor in human natural killer cells, monocytes, and dendritic cells. *J Immunol* 2007 Dec 1;179(11):7907-15.

- (69) Geng S, Gao Y, Yang J, Zou J, Guo W. Potential role of store-operated Ca^{2+} entry in Th2 response induced by histamine in human monocyte-derived dendritic cells. *Int Immunopharmacol* 2012 Feb;12(2):358-67.
- (70) Gschwandtner M, Rossbach K, Dijkstra D, Bäumer W, Kietzmann M, Stark H, et al. Murine and human Langerhans cells express a functional histamine H4 receptor: modulation of cell migration and function. *Allergy* 2010 Jul;65(7):840-9.
- (71) Sugata Y, Okano M, Fujiwara T, Matsumoto R, Hattori H, Yamamoto M, et al. Histamine H4 receptor agonists have more activities than H4 agonism in antigen-specific human T-cell responses. *Immunol* 2007 Jun;121(2):266-75.
- (72) Gutzmer R, Mommert S, Gschwandtner M, Zwingmann K, Stark H, Werfel T. The histamine H4 receptor is functionally expressed on TH2 cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009 Mar;123(3):619-25.
- (73) Leite-de-Moraes M, Diem S, Michel M, Ohtsu H, Thurmond R, Schneider E, et al. Cutting Edge: Histamine receptor H4 activation positively regulates in vivo IL-4 and IFN-gamma production by invariant NKT cells. *J Immunol* 2009 Feb 1;182(3):1233-6.
- (74) Takeshita K, Sakai K, Bacon K, Gantner F. Critical role of histamine H4 receptor in leukotriene B4 production and mast cell-dependent neutrophil recruitment induced by zymosan in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2003 Dec;307(3):1072-8.
- (75) Takeshita K, Bacon K, Gantner F. Critical role of L-selectin and histamine H4 receptor in zymosan-induced neutrophil recruitment from the bone marrow: Comparison with carrageenan. *J Pharmacol Exp Ther* 2004 Jul;310(1):272-80.
- (76) Dijkstra D, Leurs R, Chazot P, Shenton F, Stark H, Werfel T, et al. Histamine downregulates monocyte CCL2 production through the histamine H4 receptor. *J Allergy Clin Immunol* 2007 Aug;120(2):300-7.
- (77) Yamaura K, Shigemori A, Suwa E, Ueno K. Expression of the histamine H4 receptor in dermal and articular tissues. *Life Sci* in press.
- (78) Biosse-Duplan M, Baroukh B, Dy M, de Vernejoul M, Saffar J. Histamine promotes osteoclastogenesis through the differential expression of histamine receptors on osteoclasts and osteoblasts. *Am J Pathol* 2009 Apr;174(4):1426-34.
- (79) Nakaya M, Takeuchi N, Kondo K. Immunohistochemical localization of histamine receptor subtypes in human inferior turbinates. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004 Jul;113(7):552-7.
- (80) Lethbridge N, Chazot P. Immunological identification of the mouse H4 histamine receptor on spinal cord motor neurons using a novel anti-mouse H4R antibody. *Inflamm Res* 2010 Mar;59(suppl 2):197-8.
- (81) Kajihara Y, Murakami M, Imagawa T, Otsuguro K, Ito S, Ohta T. Histamine potentiates acid-induced responses mediating transient receptor potential v1 in mouse primary sensory neurons. *Neurosci* 2010 Mar 10;166(1):292-304.

- (82) Connelly W, Shenton F, Lethbridge N, Leurs R, Waldvogel H, Faull R, et al. The histamine H4 receptor is functionally expressed on neurons in the mammalian CNS. *Br J Pharmacol* 2009 May;157(1):55-63.
- (83) Strakhova M, Nikkel A, Manelli A, Hsieh G, Esbenshade T, Brioni J, et al. Localization of histamine H4 receptors in the central nervous system of human and rat. *Brain Res* 2009 Jan 23;1250:41-8.
- (84) Shan L, Bossers K, Luchetti S, Balesar R, Lethbridge N, Chazot P, et al. Alterations in the histaminergic system in the substantia nigra and striatum of Parkinson's patients: a postmortem study. *Neurobiol Aging* 2012 Jul;33(11):2585-2598.
- (85) Rossbach K, Nassenstein C, Gschwandtner M, Schnell D, Sander K, Seifert R, et al. Histamine H1, H3 and H4 receptors are involved in pruritus. *Neurosci* 2011 Sep 8;190:89-102.
- (86) Breunig E, Michel K, Zeller F, Seidl S, Hann v Weyhern C, Schemann M. Histamine excites neurones in the human submucous plexus through activation of H1, H2, H3 and H4 receptors. *J Physiol* 2007 Sep 1;583(Pt 2):731-42.
- (87) Abraham S, St. John A. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2010 Jun;10(6):440-52.
- (88) Galli S, Tsai M. Mast cells in allergy and infection: Versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *Eur J Immunol* 2010 Jul;40(7):1843-51.
- (89) Walker M, Hatfield J, Brown M. New insights into the role of mast cells in autoimmunity: Evidence for a common mechanism of action? *Biochim Biophys Acta* 2011 Jan;1822(1):57-65.
- (90) Sayed B, Christy A, Quirion M, Brown M. The master switch: The role of mast cells in autoimmunity and tolerance. *Annu Rev Immunol* 2008;26:705-39.
- (91) Stelekati E, Bahri R, D'Orlando O, Orinska Z, Mittrücker H, Langenhau R, et al. Mast cell-mediated antigen presentation regulates CD8+ T cell effector functions. *Immunity* 2009 Oct 16;31(4):665-676.
- (92) Lock C, Hermans G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garren H, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 2002 MAY 2002;8(5):500-508.
- (93) Takakubo Y, Kontinen Y, Takagi M. Immunobiology and pharmacological manipulation of dendritic and regulatory cells. unpublished results.
- (94) Steinman R, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007 Sep 27;449(7161):419-426.
- (95) Agrawal A, Sridharan A, Prakash S, Agrawal H. Dendritic cells and aging: consequences for autoimmunity. *Expert Rev Clin Immunol* 2012 Jan;8(1):73-80.

(96) Shoenfeld Y. Idiotypic Induction of Autoimmunity - a New Aspect of the Idiotypic Network. *FASEB J* 1994 Dec;8(15):1296-1301.

(97) Dunford P, O'Donnell N, Riley J, Williams K, Karlsson L, Thurmond R. The histamine H4 receptor mediates allergic airway inflammation by regulating the activation of CD4⁺ T cells. *J Immunol* 2006 Jun 1;176(11):7062-70.

(98) Wollenberg A, Sharma S, von Bubnoff D, Geiger E, Haberstok J, Bieber T. Topical tacrolimus (FK506) leads to profound phenotypic and functional alterations of epidermal antigenpresenting dendritic cells in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001 Mar;107(3):519-25.

(99) Dijkstra D, Stark H, Chazot P, Shenton F, Leurs R, Werfel T, et al. Human inflammatory dendritic epidermal cells express a functional histamine H4 receptor. *J Invest Dermatol* 2008 Jul;128(7):1696-703.

(100) Goodnow C, Sprent J, Fazekas de St Groth, Barbara, Vinuesa C. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* 2005 Jun 2;435(7042):590-7.

(101) Jutel M, Watanabe T, Klunker S, Akdis M, Thomet O, Malolepszy J, et al. Histamine regulates T-cell and antibody responses by differential expression of H1 and H2 receptors. *Nature* 2001 Sep 27;413(6854):420-5.

(102) Kmiecik T, Otocka-Kmiecik AG, Małgorzata, Ciebiada M. T lymphocytes as a target of histamine action. *Arch Med Sci* 2012 Feb 29;8(1):154-161.

(103) Mommert S, Gschwandtner M, Gutzmer R, Werfel T. The role of the histamine H4 receptor in atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011 Feb;11(1):21-8.

(104) Morgan R, McAllister B, Cross L, Green D, Kornfeld H, Center D, et al. Histamine 4 receptor activation induces recruitment of FoxP3⁺ T cells and inhibits allergic asthma in a murine model. *J Immunol* 2007 Jun 15;178(12):8081-9.

(105) Mommert S, Gschwandtner M, Koether B, Gutzmer R, Werfel T. Human Memory Th17 Cells Express a Functional Histamine H4 Receptor. *Am J Pathol* 2012 JAN;180(1):177-185.

(106) Simoni Y, Diana J, Ghazarian L, Beaudoin L, Lehuen A. Therapeutic manipulation of natural killer (NK) T cells in autoimmunity: are we close to reality? *Clin Exp Immunol* 2013 Jan;171(1):8-19.

(107) Bousquet J, Jeffery P, Busse W, Johnson M, Vignola A. Asthma - From bronchoconstriction to airways inflammation and remodelling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 May;161(5):1720-45.

(108) Cowden J, Riley J, Ma J, Thurmond R, Dunford P. Histamine H4 receptor antagonism diminishes existing airway inflammation and dysfunction via modulation of Th2 cytokines. *Respir Res* 2010 Jun 24;11(86).

- (109) Little F, Lynch E, Fine G, Center D, Cruikshank W. Tumor necrosis factor- α - Induced synthesis of interleukin-16 in airway epithelial cells - Priming for serotonin stimulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003 Mar;28(3):354-62.
- (110) Cruikshank W, Kornfeld H, Center D. Interleukin-16. *J Leukoc Biol* 2000 Jun;67(6):757-66.
- (111) Little F, de Bie J, van Oosterhout A, Kornfeld H, Center D, Cruikshank W. Immunomodulatory effect of interleukin-16 on allergic airway inflammation. *Chest* 2003 Mar;123(3):431S-2S.
- (112) McFadden C, Morgan R, Rahangdale S, Green D, Yamasaki H, Center D, et al. Preferential migration of T regulatory cells induced by IL-16. *J Immunol* 2007 Nov 15;179(10):6439-45.
- (113) Lundberg K, Broos S, Greiff L, Borrebaeck C, Lindstedt M. Histamine H4 receptor antagonism inhibits allergen-specific T-cell responses mediated by human dendritic cells. *Eur J Pharmacol* 2011 Jan 25;651(1-3):197-204.
- (114) Walter M, Kottke T, Stark H. The histamine H4 receptor: Targeting inflammatory disorders. *Eur J Pharmacol* 2011 Oct 1;668(1-2):1-5.
- (115) Skoner D. Allergic rhinitis: Definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol* 2001 Jul;108(1):S2-S8.
- (116) Shiraishi Y, Jia Y, Domenico J, Joetham A, Karasuyama H, Takeda K, et al. Sequential Engagement of Fc ϵ RI on Mast Cells and Basophil Histamine H4 Receptor and Fc ϵ RI in Allergic Rhinitis. *J Immunol* 2013 Jan 15;190(2):539-548.
- (117) Suzuki S, Takeuchi K, Majima Y. Localization and function of histamine H3 receptor in the nasal mucosa. *Clin Exp Allergy* 2008 Sep;38(9):1476-82.
- (118) Daley-Yates P, Ambery C, Sweeney L, Watson J, Oliver A, McQuade B. The Efficacy and Tolerability of Two Novel H-1/H-3 Receptor Antagonists in Seasonal Allergic Rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2012 2012;158(1):84-98.
- (119) Takahashi Y, Kagawa Y, Izawa K, Ono R, Akagi M, Kamei C. Effect of histamine H(4) receptor antagonist on allergic rhinitis in mice. *Int Immunopharmacol* 2009 JUN;9(6):734-738.
- (120) Chan N, Robador P, Levi R. Natriuretic peptide-induced catecholamine release from cardiac sympathetic neurons: Inhibition by histamine H3 and H4 receptor activation. *J Pharmacol Exp Ther* 2012 Dec;343(3):568-77.
- (121) Dunford P, Williams K, Desai P, Karlsson L, McQueen D, Thurmond R. Histamine H4 receptor antagonists are superior to traditional antihistamines in the attenuation of experimental pruritus. *J Allergy Clin Immunol* 2007 Jan;119(1):176-83.

- (122) Leonardi A, Di Stefano A, Vicari C, Motterle L, Brun P. Histamine H4 receptors in normal conjunctiva and in vernal keratoconjunctivitis. *Allergy* 2011 Oct;66(10):1360-6.
- (123) Bonini S, Sgrulletta R, Coassin M, Bonini S. Allergic conjunctivitis: Update on its pathophysiology and perspectives for future treatment. In: Pawankar R, Holgate S, Rosenwasser L, editors. *Allergy Frontiers: Clinical Manifestations* Volume 3. XXII ed. Japan: Springer; 2009. p. 25-48.
- (124) Nakano Y, Takahashi Y, Ono R, Kurata Y, Kagawa Y, Kamei C. Role of histamine H4 receptor in allergic conjunctivitis in mice. *Eur J Pharmacol* 2009 Apr 17;608(1-3):71-5.
- (125) Gutzmer R, Gschwandtner M, Rossbach K, Mommert S, Werfel T, Kietzmann M, et al. Pathogenetic and therapeutic implications of the histamine H4 receptor in inflammatory skin diseases and pruritus. *Front Biosci* 2011 Jun 1;3:985-94.
- (126) Paus R, Schmelz M, Bíró T, Steinhoff M. Frontiers in pruritus research: scratching the brain for more effective itch therapy. *J Clin Invest* 2006 May;116(5):1174-85.
- (127) Schmelz M, Schmidt R, Bickel A, Handwerker H, Torebjörk E. Specific C-Receptors for Itch in Human Skin. *J Neurosci* 1997 Oct 15;17(20):8003-8.
- (128) Andrew D, Craig A. Spinothalamic lamina I neurons selectively sensitive to histamine: a central neural pathway for itch. *Nat Neurosci* 2001 Jan;4(1):72-7.
- (129) Ikoma A, Steinhoff M, Ständer S, Yosipovitch G, Schmelz M. The neurobiology of itch. *Nat Rev Neurosci* 2006 Jul;7(7):535-47.
- (130) Bell J, McQueen D, Rees J. Involvement of histamine H4 and H1 receptors in scratching induced by histamine receptor agonists in BalbC mice. *Br J Pharmacol* 2004 May;142(2):374-80.
- (131) Sugimoto Y, Iba Y, Nakamura Y, Kayasuga R, Kamei C. Pruritus-associated response mediated by cutaneous histamine H3 receptors. *Clin Exp Allergy* 2004 Mar;34(3):456-9.
- (132) Ikawa Y, Shiba K, Ohki E, Mutoh N, Suzuki M, Sato H, et al. Comparative study of histamine H4 receptor expression in human dermal fibroblasts. *J Toxicol Sci* 2008 Oct;33(4):503-8.
- (133) Yamaura K, Oda M, Suwa E, Suzuki M, Sato H, Ueno K. Expression of histamine H4 receptor in human epidermal tissues and attenuation of experimental pruritus using H4 receptor antagonist. *J Toxicol Sci* 2009 Oct;34(4):427-31.
- (134) Ständer S, Steinhoff M. Pathophysiology of pruritus in atopic dermatitis: an overview. *Exp Dermatol* 2002 Feb;11(1):12-24.

- (135) Bäumer W, Stahl J, Sander K, Petersen L, Paps J, Stark H, et al. Lack of preventing effect of systemically and topically administered histamine H1 or H4 receptor antagonists in a dog model of acute atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2011 Jul;20(7):577-81.
- (136) Liu F, Goodarzi H, Chen H. IgE, Mast Cells, and Eosinophils in Atopic Dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011 Dec;41(3):298-310.
- (137) Wollenberg A, Kraft S, Hanau D, Bieber T. Immunomorphological and ultrastructural characterization of Langerhans cells and a novel, inflammatory dendritic epidermal cell (IDEC) population in lesional skin of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1996 Mar;106(3):446-453.
- (138) Simon D, Braathen L, Simon H. Eosinophils and atopic dermatitis. *Allergy* 2004 Jun;59(6):561-570.
- (139) Yu B, Shao Y, Zhang J, Dong X, Liu W, Yang H, et al. Polymorphisms in human histamine receptor H4 gene are associated with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2010 May;162(5):1038-43.
- (140) Chu C, Di Meglio P, Nestle F. Harnessing dendritic cells in inflammatory skin diseases. *Semin Immunol* 2011 Feb;23(1):28-41.
- (141) Kawakami T, Ando T, Kimura M, Wilson B, Kawakami Y. Mast cells in atopic dermatitis. *Curr Opin Immunol* 2009 Dec;21(6):666-678.
- (142) Cowden J, Zhang M, Dunford P, Thurmond R. The histamine H4 receptor mediates Inflammation and pruritus in Th2-dependent dermal inflammation. *J Invest Dermatol* 2010 Apr;130(4):1023-33.
- (143) Suwa E, Yamaura K, Oda M, Namiki T, Ueno K. Histamine H4 receptor antagonist reduces dermal inflammation and pruritus in a hapten-induced experimental model. *Eur J Pharmacol* 2011 Sep 30;667(1-3):383-8.
- (144) Seike M, Furuya K, Omura M, Hamada-Watanabe K, Matsushita A, Ohtsu H. Histamine H4 receptor antagonist ameliorates chronic allergic contact dermatitis induced by repeated challenge. *Allergy* 2010 Mar;65(3):319-26.
- (145) Matsushita A, Seike M, Okawa H, Kadawaki Y, Ohtsu H. Advantages of histamine H4 receptor antagonist usage with H1 receptor antagonist for the treatment of murine allergic contact dermatitis. *Exp Dermatol* 2012 Sep;21(9):714-5.
- (146) Ohsawa Y, Hirasawa N. The antagonism of histamine H1 and H4 receptors ameliorates chronic allergic dermatitis via anti-pruritic and anti-inflammatory effects in NC/Nga mice. *Allergy* 2012 Aug;67(8):1014-22.
- (147) Rossbach K, Wendorff S, Sander K, Stark H, Gutzmer R, Werfel T, et al. Histamine H4 receptor antagonism reduces hapten-induced scratching behaviour but not inflammation. *Exp Dermatol* 2009 Jan;18(1):57-63.

- (148) Hossen M, Sugimoto Y, Kayasuga R, Kamei C. Involvement of histamine H3 receptors in scratching behaviour in mast cell-deficient mice. *Br J Dermatol* 2003 Jul;149(1):17-22.
- (149) Bäumer W, Wendorff S, Gutzmer R, Werfel T, Dijkstra D, Chazot P, et al. Histamine H4 receptors modulate dendritic cell migration through skin – immunomodulatory role of histamine. *Allergy* 2008 Oct;63(10):1387-1394.
- (150) Firestein G. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 2003 May 15;423(6937):356-61.
- (151) Adlesic M, Verdrengh M, Bokarewa M, Dahlberg L, Foster SJ, Tarkowski A. Histamine in rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 2007 JUN;65(6):530-537.
- (152) Eklund K, Joensuu H. Treatment of rheumatoid arthritis with imatinib mesylate: clinical improvement in three refractory cases. *Ann Med* 2003;35(5):362-367.
- (153) McInnes I, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol* 2007 Jun;7(6):429-42.
- (154) McInnes I, Schett G. MECHANISMS OF DISEASE The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2011 Dec 8;365(23):2205-19.
- (155) Frewin D, Cleland L, Jonsson J, Robertson P. Histamine Levels in Human Synovial-Fluid. *J Rheumatol* 1986 FEB;13(1):13-14.
- (156) Zampeli E, Thurmond R, Tiligada E. Effect of the H₄ antagonist JNJ7777120 on the cartilage histamine content in rats with adjuvant arthritis. *Fund Clin Pharmacol* 2008;22(Suppl.(2)):10.
- (157) Gschwandtner M, Mommert S, Koether B, Werfel T, Gutzmer R. The Histamine H-4 Receptor Is Highly Expressed on Plasmacytoid Dendritic Cells in Psoriasis and Histamine Regulates Their Cytokine Production and Migration. *J Invest Dermatol* 2011 AUG;131(8):1668-1676.
- (158) Yu B, Shao Y, Li P, Zhang J, Zhong Q, Yang H, et al. Copy number variations of the human histamine H4 receptor gene are associated with systemic lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2010 Nov;163(5):935-40.
- (159) Kontinen Y, Tuominen S, Segerberg-Kontinen M, Jungell P, Malmström M, Grönblad M, et al. Mast cells in the labial salivary glands of patients with Sjögren's syndrome: a histochemical, immunohistochemical, and electron microscopical study. *Ann Rheum Dis* 1990 Sep;49(9):685-9.

Entrez Genez, HRH2:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?db=gene&cmd=Retrieve&dopt=full_report&list_uids=3274